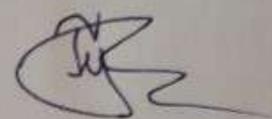


ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Медико-профилактический факультет с отделением биологии
Кафедра фундаментальной и прикладной микробиологии

На правах рукописи



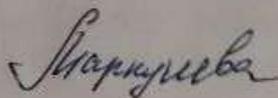
Гумерова Адель Рафаэлевна

**Сравнительное исследование бактериальных генов
сурфактина, фенгицина и итурина**

Научный руководитель:

доктор биологических наук

профессор, д.б.н.



Маркушева Т.В.

Уфа-2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	6
1.1. Общая характеристика биосурфактантов	6
1.1.1. Классификация биосурфактантов	7
1.1.2. Основные продуценты БС	8
1.1.3. Строение НРПС	12
1.1.4. Сурфактин: строение, синтез	17
1.1.5. Итурин: строение, синтез	19
1.1.6. Лихенизин: строение, синтез	21
1.1.7. Фенгицин: строение, синтез	22
1.2. Области применения биосурфактантов	23
1.2.1. Применение биосурфактантов в нефтяной промышленности.	24
1.2.2. Применение биосурфактантов в сельском хозяйстве.	27
1.2.3. Применение биосурфактантов в медицине, фармакологии и косметологии.	27
1.2.4. Применение биосурфактантов в пищевой промышленности.	29
1.2.5. Применение биосурфактантов в производстве моющих и чистящих средств.	31
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	32
2.1. Объекты исследования	32
2.2. Приготовление питательных сред для культивирования штамма <i>Bacillus altitudinis</i> API-2019	33
2.3. Приготовление питательной среды для культивирования штаммов <i>B. cereus</i> DG-1, <i>B. cereus</i> DG-5, <i>B. cereus</i> DG-6, <i>B. cereus</i> DG-7, <i>B. subtilis</i> TA-3, <i>B. subtilis</i> TA-8, <i>Serratia plymuthica</i> TV-4, консорциума штаммов VM-2	34
2.4. Метод посева бактерий	34
2.5. Идентификация штаммов	35
2.6. Выделение препаратов ДНК	35
2.7. Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР)	37
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ	44
ВЫВОДЫ	55
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	56

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность

Поверхностно-активные вещества (ПАВ) входят в группу органических соединений, для которых свойственно амфифильное строение, данные вещества имеют как гидрофильный, так и гидрофобный компоненты. Для ПАВ характерны тенденции к распределению между двумя несмешивающимися жидкостями, уменьшению поверхностного/межфазного натяжения и активации процесса растворения неполярных соединений в полярных растворителях.

Поверхностно-активные соединения синтезируются либо химическим, либо биологическим путями. ПАВ биологического происхождения называются биосурфактантами (БС), так как они образуются в результате жизнедеятельности живых систем, в частности микроорганизмов. В отличие от синтетических ПАВ биосурфактанты являются нетоксичными и биоразлагаемыми веществами, специфичными и устойчивыми к экстремальным условиям. БС интересны тем, что обладают определенными свойствами, среди которых антибактериальная, антифунгицидная и противовирусная активности. В связи с уникальными свойствами биосурфактанты применяются разных сферах: в медицине, сельском хозяйстве, нефтяной и добывающей промышленности, косметологии, пищевой промышленности, химическом производстве моющих и чистящих средств.

Однако несмотря на высокий потенциал и возможность более широкого применения биосурфактантов их производство в промышленных масштабах связано с рядом трудностей, одной из которых является их низкая продуктивность, что в свою очередь связано с тем, что штаммы-производители и рекомбинантные штаммы очень редки. Другая сложность заключается в том, что для получения сурфактантов биологического происхождения необходимо дорогое сырье. Указанные факторы влияют на

производство биосурфактантов в крупных масштабах, делая его капиталоемким и неконкурентоспособным по сравнению с ПАВ, синтезированного химическим путем.

В связи с вышеизложенным особый интерес представляет поиск новых продуцентов биосурфактантов, выявление которых позволит расширить объемы их производства.

- **Объектами исследования** являлись 9 коллекционных штаммов: *Bacillus altitudinis* API-2019, *Bacillus cereus* DG-1, *B. cereus* DG-5, *B. cereus* DG-6, *B. cereus* DG-7, *B. subtilis* TA-3, *B. subtilis* TA-8, *Serratia plymuthica* TV-4 и консорциум штаммов VM-2.
- **Целью работы** являлось сравнительное изучение бактериальных генов сурфактина, фенгицина и итурина с использованием полимеразной цепной реакции.

Для достижения целей были поставлены следующие **задачи**:

1. Изучить культуральные, морфологические и физиолого-биохимические особенности штаммов рода *Bacillus* (*B. subtilis*, *B. cereus*, *B. altitudinis*); *S. plymuthica* и консорциума штаммов;
2. Произвести детектирование генов сурфактантов методом ПЦР (сурфактина, фенгицина, итурина и лихенизина) у штаммов рода *Bacillus* (*B. subtilis*, *B. cereus*, *B. altitudinis*); *S. plymuthica* и консорциума штаммов;
3. Осуществить сравнительный анализ полученных результатов

Методы работы

Оценка способности исследуемых штаммов к биосинтезу сурфактина, итурина и фенгицина проводилась с использованием комплекса современных микробиологических методов, включающих, приготовление сред, позволявших культивировать штаммы, выделение препаратов ДНК и

полимеразной цепной реакции с визуализацией результатов в реальном времени.

В результате исследований было выявлено, что в геномах *Bacillus cereus DG-5* и *Bacillus cereus DG-6* присутствует ген *sfp*, кодирующий синтез сурфактина. Полученные результаты обладают новизной, так как в более ранних исследованиях отсутствует информация о способности *Bacillus cereus* продуцировать сурфактин. Методом ПЦР в реальном времени в геноме *Bacillus subtilis TA-8* обнаружен ген *srfAA*, кодирующий синтез сурфактина. Установлено, что в составе генома штамма *Bacillus altitudinis API-2019* присутствуют гены *ituD* и *fenD*, кодирующие синтез итурина и фенгицина соответственно.

Научно-практическая значимость

Сведения, которые были получены в результате данного исследования, дополняют ранее полученную информацию о штаммах рода *Bacillus*, синтезирующих сурфактанты. Они могут быть полезны в поиске продуцентов биосурфактантов в промышленных масштабах и активного применения биоПАВ в различных сферах деятельности человека.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Общая характеристика биосурфактантов

Биосурфактанты – это поверхностно-активные вещества биологического происхождения. Данные соединения являются вторичными метаболитами, поскольку микроорганизмы, растения и высшие животные вырабатывают их в процессе своей жизнедеятельности. Биосурфактанты имеют амфифильную природу, они уменьшают поверхностное и межфазное натяжение, вызывая тем самым растворение одной жидкости в другой [1,2]. Для БС характерны такие свойства как солюбилизация, смазывание, моющее действие; им свойственны стабилизирующая и пенообразующая способности [3,4].

Биосурфактанты альтернативны ПАВ, которые производятся химическим путем [5-9]. Преимуществами сурфактантов биологического происхождения перед синтетическими ПАВ выступают их безопасность для окружающей среды, биосовместимость, возможность производства из разнообразного относительно дешевого сырья и промышленных отходов. Они интересны тем, что стабильны при экстремальных значениях pH, солености и температуре, а также им свойственна специфичность [8, 10-19].

Перспективность применения биосурфактантов заключается ещё в том, что они оказывают положительное воздействие на микроорганизмы, продуцирующие их. Например, БС делают доступным рост бактерий на несмешивающихся с водой субстратах, снижая поверхностное натяжение на границе раздела, тем самым делая субстраты/питательные вещества растворимыми для поглощения, что необходимо для метаболизма бактериальных клеток. Они обеспечивают логарифмический рост биомассы, проявляют антимикробную активность в отношении различных микроорганизмов, а также придают устойчивость при неблагоприятных условиях окружающей среды [20].

1.1.1. Классификация биосурфактантов

В зависимости от молекулярной массы биосурфактанты подразделяются на две группы – с низкой и высокой молекулярной массой [5,21,22].

Первая группа включает гликолипиды, липопептиды и фосфолипиды, которые эффективно уменьшают межфазное и поверхностное натяжение. Биосурфактанты, относящиеся ко второй группе, являются эмульсификаторами и стабилизаторами эмульсий. К БС с высокой молекулярной массой принадлежат липопротеины, липополисахариды, полисахариды и протеины.

На основании химического состава биосурфактанты группируются на гликолипиды (рамнолипиды, софоролипиды, трегалоллипиды, липиды маннозилэритрита), липопептиды (сурфактин, итурин, лишенизин, фенгицин, серраветтин), жирные кислоты/фосфолипиды/нейтраллипиды (фосфатидилэтаноламин, спикулиспорная кислота), полимерные биосурфактанты (эмульсан, аласан, биодисперсан, липосан) и частицы биосурфактантов (везикулы, цельноклеточные) [23-25].

Липопептиды привлекают к себе внимание многих исследователей. Данные вещества являются амфифильными и устойчивыми к гидролизу протеазами и пептидазами, а также нечувствительными к действию высоких температур и окислению. В тоже время цистеиновые остатки липопептидов способны окисляться до сульфидов и/или подвергаться изменениям структуры до появления характерных внутримолекулярных C–S-связей.

Липопептиды содержат от 4 до 16 аминокислотных остатков в L- или D-конфигурации [26]. На основании химической структуры липопептиды подразделяются на линейные и циклические. Для циклических липопептидов характерна молекулярная структура, включающая циклический компонент, который сформирован карбоксильной группой C-

конца пептидной цепи и гидроксильной группой жирной кислоты или аминогруппой пептидной цепи. Линейные липопептиды имеют в своем составе линейно расположенные аминокислоты, связанные друг с другом или с жирной кислотой, соединенной с гидроксильным остатком или α -аминогруппой. В зависимости от структуры, циклические липопептиды можно разделить на три класса: 1) итурины (итурин А, бацилломицин и микосубтилин); 2) сурфактины; 3) фенгицины (плипастатин) [27,28].

1.1.2. Основные продуценты БС

Наиболее активными продуцентами биосурфактантов являются бактерии, принадлежащие к родам *Bacillus*, *Pseudomonas* и *Acinetobacter*, грибы родов *Aspergillus* и *Fusarium*, а также дрожжи, относящиеся к родам *Candida* и *Pseudozyma* [29]. Среди бактерий, синтезирующих данные вещества, наиболее распространенными являются представители родов *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Lactobacillus*, *Mycobacterium*, *Burkholderia*, *Rhodococcus*, *Arthrobacter*, *Gordonia*, *Nocardia*, *Acinetobacter*.

При изучении различных характеристик биосурфактантов исследователи нередко используют культуры рода *Bacillus*. В связи с этим ниже приведена таблица 1, в которой представлены штаммы, относящиеся к роду *Bacillus*, которые синтезируют сурфактанты биологического происхождения, в частности, сурфактин, фенгицин и итурин.

Таблица № 1 Штаммы, продуцирующие сурфактин, фенгицин и итурин

Штамм	Биосурфактант(ы)	Авторы исследования, год
<i>B. amyloliquefaciens subsp. plantarum</i> Fito_F321	Сурфактин, фенгицин	Pinto C., Sousa S., Froufe H., Egas C., Clément C., Fontaine F., Gomes A.C., 2018
<i>B. amyloliquefaciens</i> S499	Сурфактин, фенгицин	Fahim S., 2017
<i>B.amyloliquefaciens</i> FMB72	Фенгицин	Zhao J, Zhang C, Lu Z, 2018
<i>B. amyloliquefaciens</i> ES-2-4	Фенгицин	Zhao J, Zhang C, Lu Z, 2018

Продолжение таблицы №1

Штамм	Биосурфактант(ы)	Авторы исследования, год
<i>B. amyloliquefaciens</i> FJAT-2349	Сурфактин, итурин, фенгицин	Chen M.C., Wang J.P., Zhu Y.J., Liu B., Yang W.J., Ru an C.Q., 2019
<i>B. amyloliquefaciens</i> C2LP	Итурин	Dang Y., Zhao F., Liu X., Fan X., Huang R., Gao W., Wang S., Yang C., 2019
<i>B. amyloliquefaciens</i> S499	Сурфактин	Pertot I., Puopolo G., Hosni T., Pedrotti L., Jourdan E., Ongena M., 2013
<i>B. amyloliquefaciens</i> LL3	Сурфактин, фенгицин	Gao W., Liu F., Zhang W., Quan Y., Dang Y., Feng J., Gu Y., Wang S., Song C., Yang C., 2017
<i>B. amyloliquefaciens</i> CNU114001	Итурин	Ji S.H., Paul N.C., Deng J.X. Kim Y.S., Yun B.-S., Yu S.H., 2013
<i>B. amyloliquefaciens</i> S13-3	Итурин А, сурфактин, фенгицин	Yamamoto S., Shiraishi S., Suzuki S., 2015
<i>B. amyloliquefaciens</i> MEP218	Итурин А, сурфактин, фенгицин	Alvarez F., Castro M., Príncipe A., Borioli G., Fischer S., Mori G., Jofré E, 2012
<i>B. amyloliquefaciens</i> ARP23	Итурин А, сурфактин, фенгицин	Alvarez F., Castro M., Príncipe A., Borioli G., Fischer S., Mori G., Jofré E, 2012
<i>B. amyloliquefaciens</i> PPCB004	Итурин А, сурфактин, фенгицин	Arreleda E., Jacobs R., Korsten L., 2010
<i>B. amyloliquefaciens</i> S76-3	Итурин, сурфактин	Gong A.P., Li H.P., Yuan O.S. Song X.S., Yao W., He W.-J., Zhang J.-B., Liao Y.-C, 2015

Продолжение таблицы №1

Штамм	Биосурфактант(ы)	Авторы исследования, год
<i>B. amyloliquefaciens G1</i>	Сурфактин	Ghribi D., Elleuch M., Abdelkefi L., Ellouze– Chaabouni S., 2012
<i>B. amyloliquefaciens AG1</i>	Сурфактин	Ben Khedher S., Boukedi H., Dammak M., Kilani–Feki O., Sellami-Boudawara T., Abdelkefi–Mesrati L., Tounsi S., 2017
<i>B. atrophaeus GQJK17</i>	Сурфактин, фенгицин	Ma J., Wang C., Wang H., Liu K., Zhang T., Yao L., Zhao Z., Du B., Ding Y., 2018
<i>B. licheniformis GL174</i>	Сурфактин	Nigris S., Baldan E., Tondello A., Zanella F., Vitulo N., Favaro G., Guidolin V., Bordin N., Telatin A., Barizza E.,2 Marcato S., Zottini M., Squartini A., Valle G., Bal dan B, 2018
<i>B. mojavensis</i>	Сурфактин, фенгицин	Bacon C.W., Hinton D.M., Mitchell T.R., 2018
<i>B. subtilis M51</i>	Итурин А2	Citernes A. S, 1994
<i>B. subtilis B-3</i>	Итурин А	Klich M. A., Lax A. R., Bland J. M., 1991
<i>B. subtilis ИБ-17</i>	Сурфактин	Мелентьев А.И., Кузьмина Л.Ю., Яковлева О.В., Курченко В.П., 1994
<i>B. subtilis ATCC 21322 – 1431</i>	Сурфактин, фенгицин	Fahim S., 2017
<i>B. subtilis RP24</i>	Итурин А	Zhao X., Zhou Z.J., Han Y., Wang Z.Z., Fan J., Xiao H.Z.,2013
<i>B. subtilis F29-3</i>	Фенгицин	Vanittanakom N., Loeffler W., Koch U., Jung G., 1986
<i>B. subtilis NCD-2</i>	Фенгицин	Vanittanakom N., Loeffler W., Koch U., Jung G., 1986

Продолжение таблицы №1

Штамм	Биосурфактант(ы)	Авторы исследования, год
<i>B. subtilis</i> RMB5	Фенгицин	Vanittanakom N., Loeffler W., Koch U., Jung G., 1986
<i>B. subtilis</i> BS6	Фенгицин	Vanittanakom N., Loeffler W., Koch U., Jung G., 1986
<i>B. subtilis</i> NS1	Фенгицин	Vanittanakom N., Loeffler W., Koch U., Jung G., 1986
<i>B. subtilis</i> OG	Сурфактин, итурин	Etchegaray A., de Castro Bueno C., de Melo I.S., Tsai S.M., Fiore M.F., Silva–Stenico M.E., de Moraes L.A., Teschke O., 2008
<i>B. subtilis</i> 6051	Сурфактин	Bais H.P., Fall R., Vivanco J.M., 2004
<i>B. subtilis</i> KS03	Итурин	Cho S.J., Lee S.K., Cha B.J., Kim Y.H., Shin K.S., 2003
<i>B. subtilis</i> SQR9	Итурин В	Cao Y., Pi H., Chandrangsu P., Li Y., Wang Y., Zhou H., Xiong H., Helmann J.D., Cai Y., 2018
<i>B. subtilis</i> UMAF6614	Фенгицин	Zerriouh H., Romero D., Garcia–Gutierrez L., Cazorla F.M., de Vicente A., Perez–Garcia A., 2011
<i>B. subtilis</i> GM5	Сурфактин, фенгицин	Mardanova A.M., Hadieva G.F., Lutfullin M.T., Khilyas I.V., Minnullina L.F., Gilyazeva A.G., Bogomolnaya L.M., Sharipova M.R., 2017
<i>B. subtilis</i> GA1	Фенгицин	Touré Y., Ongena M., Jacques P., Guiro A., Thonart P, 2004
<i>B. subtilis</i> BBG235	Фенгицин	Yaseen Y., Diop A., Gancel F., Béchet M., Jacques P., Drider D., 2018

Продолжение таблицы №1

Штамм	Биосурфактант(ы)	Авторы исследования, год
<i>B. subtilis</i> BBG236	Фенгицин	Yaseen Y., Diop A., Gancel F., Béchet M., Jacques P., Drider D., 2018
<i>B. subtilis</i> SPB1	Сурфактин	Ghribi D., Elleuch M., Abdelkefi L., Ellouze– Chaabouni S., 2012
<i>B. subtilis</i> BMG02	Сурфактин	Hussein W., Awad H., Fahim S, 2016
<i>B. tequilensis</i> SV104	Фенгицин	Vanittanakom N., Loeffler W., Koch U., Jung G., 1986
<i>B. tequilensis</i> 7PJ-16	Сурфактин, фенгицин	Xu W.F., Ren H.S., Ou T., Lei T., Wei J.H., Huang C.S., Li T., Strobel G., Zhou Z.Y., Xie J, 2018
<i>B. thuringiensis</i> CMB26	Фенгицин	Kim P.I., Bai H., Bai D., Chae H., Chung S., Kim Y., Park R., Chi Y.T, 2004
<i>B. velezensis</i> LM2303	Итурин, сурфактин-а, фенгицин-б	Chen L., Heng J., Qin S., Bian K, 2018
<i>B. velezensis</i> 9D-6	Сурфактин, фенгицин	Grady E.N., MacDonald J., Ho M.T., Weselowski B., McDowell T., Solomon O., Renaud J., Yuan Z.C., 2019

Сурфактин представляет собой очень сильное поверхностно-активное вещество, часто выступающее в качестве антибиотика. Для него характерны антибактериальная, противогрибковая и противовирусная активности [30]. Итурину свойственна сильная противогрибковая активность [31,32], а фенгицин особо эффективен в борьбе с нитчатými грибами [30].

1.1.3. Строение НРПС

Липопептиды продуцируются представителями рода *Bacillus*. Рассматриваемые соединения синтезируются ферментами,

принадлежащими к семейству нерибосомальных пептид синтетаз (NRPS, НРПС). Для нерибосомальных пептидных синтаз свойственно кластерное строение и объединенность в модули, которые содержат несколько доменов. Для каждого комплекса НРПС характерны следующие модули: модуль инициации, переменное число модулей элонгации и модуль терминации. Каждый модуль включает в себя каталитические домены: аденилирования (А), тиолизации (Т), конденсации (С) и тимоэстеразы (ТЕ). Также могут встречаться домены, ответственные за модификацию. К подобным доменам относятся метилтрансферазный (МТ) и эпимеризационный (Е) домены [33]. Порядок доменов может меняться, это зависит от метаболита [34].

Для наглядности преподнесенной информации ниже приведена схема, отражающая общий принцип строения кластера генов, который ответственен за синтез нерибосомных пептидов. Также данный рисунок включает в себя схематично изображенный путь образования этого пептида.

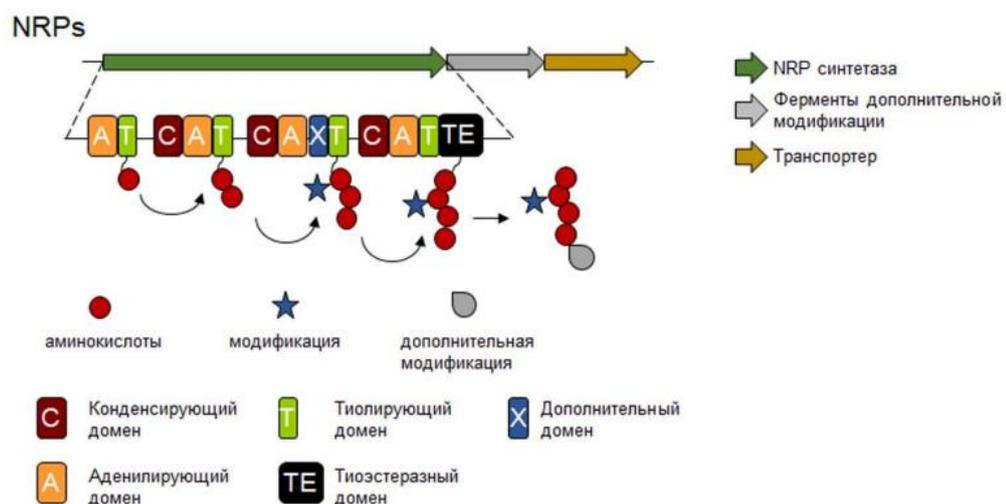


Рисунок 1. Схема кластера генов, синтезирующего нерибосомный пептид, а также путь биосинтеза данного пептида [35]

Домен Т играет важнейшую роль в формировании пептида. В качестве простетической группы тиолирующий домен содержит 4'-фосфопантетеин, являющийся линкером для переноса пептидов и аминокислот между

активными центрами домена А и домена С. В холоферменте 4'-фосфоантетеин соединен через фосфоэфирную связь с консервативным остатком серина в тиолирующем домене. Преобразование Т-домена из апофермента в холофермент производит ацилпереносящий белок фосфоантетеин трансфераза (PPTase) [36]. Коэнзим А - источник фосфоантетеина. С КоА осуществляется перенос 4'-фосфоантетеина с высвобождением АТФ (**Рисунок 2**, верхняя панель). После модификации 4'-фосфоантетеином тиолирующий домен изменяет свою конформацию. Благодаря этому для становится возможным взаимодействие с остальными доменами НРПС [37].

Домен А является активатором аминокислоты и переносит ее на SH-группу 4'-фосфоантетеина (**Рисунок 2**, вторая панель сверху). Избирательное связывание аминокислоты происходит в субстрат-связывающем кармане, аминокислотные остатки которого образуют множественные связи с субстратом [38].

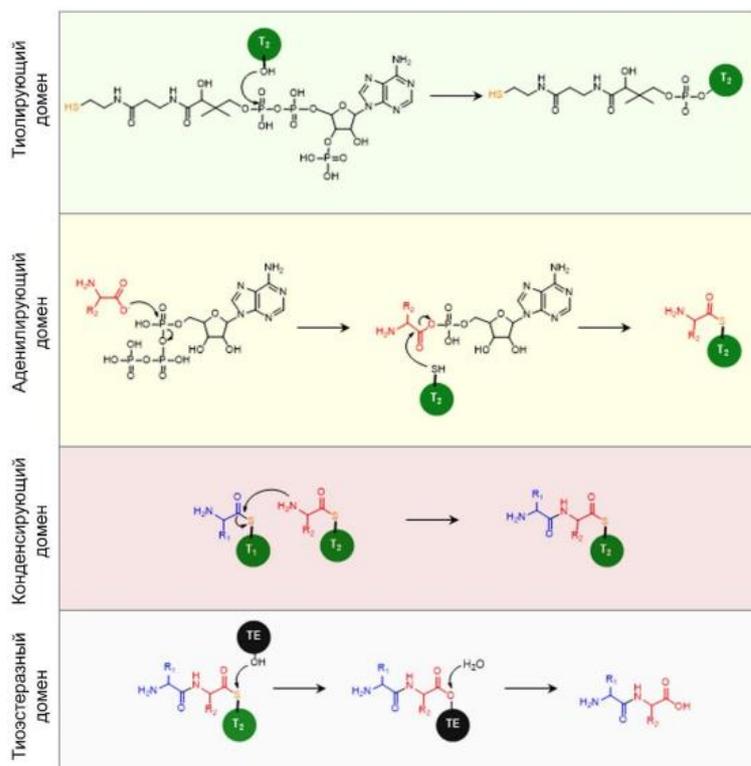


Рисунок 2. Схема реакций, которые происходят в доменах НРПС в течение синтеза пептида [35]

Домен А включает в себя два субдомена, каталитический карман при этом образуется в основном за счёт аминокислот N-концевого домена, в то время как в С-концевом домене располагается лишь консервативный Lys517, который очень необходим для реакции аденилирования. Субдомены соединяются с помощью подвижного 5-аминокислотного линкера. С-концевой субдомен, содержащий каталитический Lys517, в открытой конформации направлен в сторону от N-концевого субдомена, включающего субстрат связывающий карман. После формирования связи между аминокислотой и Mg^{2+} -АТФ, происходит поворот С-концевого субдомена на $\sim 30^\circ$, закрывается каталитический карман [39]. В закрытой конформации Lys517 реагирует с α -фосфатным остатком АТФ и выступает в качестве инициатора реакции образования аминоксил-аденилата [40]. Гидролиз АТФ вызывает разворот С-концевого субдомена на 140° , сближение тиолирующего домена с аденилирующим и присоединение фосфоантетеина к активному центру. Аминоксил-аденилат атакуется тиольной группой фосфоантетеина, при этом образуется аминоксилтиоэфир и высвобождается АМФ [39] (**Рисунок 2**, вторая панель сверху).

За образование пептидной связи в растущем пептиде ответственен домен С, состоящий из двух субдоменов. Поверхности этих субдоменов образуют центральный туннель [41]. Два фосфоантетеиновых линкера, находящиеся в продуктивной конформации и принадлежащие к донорному и акцепторному Т-доменам, находятся с противоположных сторон туннеля в вытянутой конформации, вследствие этого С-конец растущей пептидной цепи сближается с NH_2 -группой последующей аминокислоты в активном сайте фермента. В связи с тем, что подробности катализа известны не до конца, предполагается, что происходит формирование водородной связи ϵ -азота второго гистидина в консервативном мотиве $HNxxDG$ активного центра с α - NH_2 -группой активированной аминокислоты, а также осуществляется правильная ориентация для нуклеофильной атаки NH_2 -

группы на тиоэфирную связь донорного пептидилфосфопантетеина [42] (**Рисунок 2**, панель третья сверху). В итоге появляется пептидная связь и удлинённый пептид связывается с акцепторным тиолирующим доменом.

В ТЕ домене высвобождается готовый нерибосомный пептид. Тиоэстеразный домен включает мотив GxS/CxG, и в этом мотиве центральный серин или иногда цистеин являются каталитическими [43]. Гидролиз тиоэфирной связи между пептидом и фосфопантетеином последнего Т домена происходит с появлением промежуточного эфира (тиоэфира) и каталитической аминокислоты (**Рисунок 2**, нижняя панель). Гидролиз этого промежуточного соединения молекулой воды освобождает готовый линейный пептид.

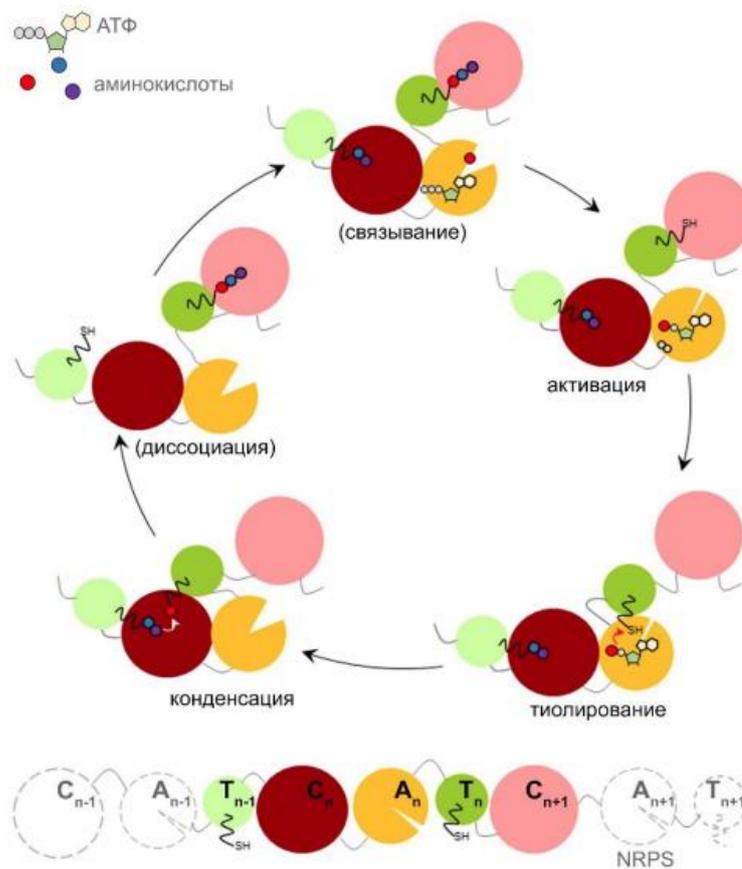


Рисунок 3. Каталитический цикл нерибосомальной пептид синтетазы. Поочередное взаимодействие домена Т с каталитическими доменами НРПС. А – аденилирующий домен, С – конденсирующий домен, Т – тиолирующий домен. Индекс – это порядковый номер модуля в НРПС [35]

Сборка липопептида нерибосомальной пептид синтетазой осуществляется в три стадии:

1. Стадия инициации. Домен А соединяется с аминокислотой, после чего аминокислота активируется с помощью АТФ и переносится на домен Т, присоединяясь при помощи тиоэфирной связи;

2. Стадия элонгации. Кроме доменов аденилирования и тиолизаии модули элонгации содержат домен С. Домен С ответственен за формирование пептидной связи между активированными аминокислотами. На стадии элонгации участвуют дополнительные домены: эпимеризационный и метилтрансферазный. Домен Е, катализирующий изомеризацию форм L-аминокислот в D-аминокислоты. А домен МТ переносит метильную группу на соответствующую аминокислоту;

3. Стадия терминации. Для модуля терминации характерно наличие домена ТЕ, гидролизующего и высвобождающего нерибосомальный пептид из рассматриваемого комплекса. Продукты подобного синтеза, как правило, состоят из 2-48 аминокислот.

1.1.4. Сурфактин: строение, синтез

Сурфактин — это мощное поверхностно-активное вещество. Ему свойственны противовирусная, антибактериальная и противогрибковая активности.

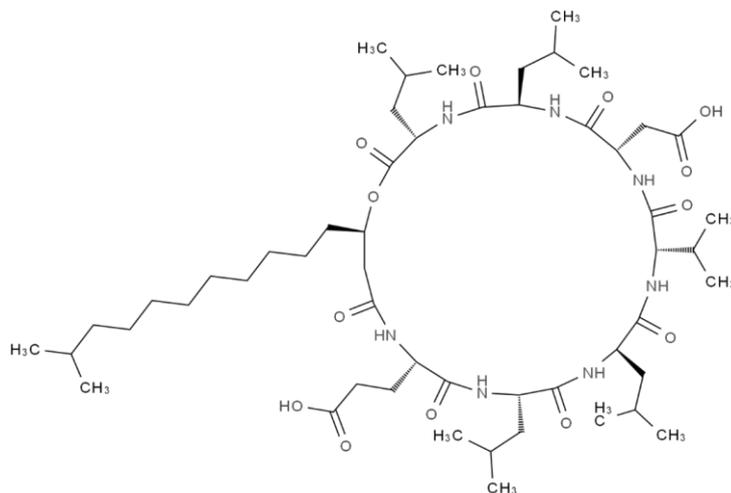


Рисунок 4. Структурная формула сурфактина [44]

Сурфактин является липопептидом, кодирующимся опероном *srfA*. Данный оперон включает в себя следующие гены: *srfAA*, *srfAB*, *srfAC*, *srfAD*. Сурфактин представлен кольцевым гептапептидом, который содержит: два L-лейцина и два D-лейцина, L-валин, L-аспарагиновую кислоту и глутаминовую кислоту. Молекулярная масса рассматриваемого липопептида составляет 1036 Да. В бактериальной клетке изоформы сурфактина находятся в виде сочетания семи вариантов с разной длиной алифатической цепи. У сурфактина выявлено наличие минорного полярного домена. За его формирование ответственны остатки аспарагиновой и глутаминовой кислот в положении 1 и 5-ом положении соответственно. Отсутствует достоверная информация о возможности растворения сурфактина в воде, однако его гидрофильно-липофильный баланс соответствует 10-12, указывая тем самым на его склонность к растворению в смеси масляных и водных фаз.

Комплекс сурфактин-синтетазы образуется четырьмя субъединицами, такими как SrfD (40 кДа), SrfC (144 кДа), SrfB (401 кДа) и SrfA (402 кДа). SrfC, SrfB и SrfA объединяют семь модулей, содержащих 24 каталитических домена. При этом каждый модуль способствует включению субстрата в удлиняющуюся гептапептидную последовательность, а SrfD инициирует синтез сурфактина.

Оперон имеет четыре модульные рамки считывания (*srfAA*, *srfAB*, *srfAC* и *srfAD*), кодирующие четыре субъединицы сурфактин-синтетазы. Как пример, *srfAA* кодирует фермент, включающий домен для лейцина и глутаминовой кислоты. А *srfAB* ответственен за кодирование фермента, содержащего домены для аспарагиновой кислоты и валина. Тогда как аминокислотный домен для L-лейцина располагается в ферменте, который кодируется *srfAC*. И *srfAD* кодирующий фермент, являющийся напоминанием первичной структуры семейства тиоэстераз. На синтез сурфактина может также влиять экспрессия гена *sfp*, располагающегося на

4 тысячи пар нуклеотидов ниже локуса *srfA*. Сурфактин способны продуцировать бактерии рода *Bacillus*. Выдвинута гипотеза, что сурфактин способен выделяться из микроорганизмов, продуцирующих его, за счёт пассивной диффузии посредством цитоплазматической мембраны, так как активный транспортер не обнаружен.

1.1.5. Итурин: строение, синтез

К семейству итуринов принадлежат итурин, микосубтилин и бацилломицин, относящиеся к циклическим липогептапептидам.

Итурин А считается более изученным соединением по сравнению с другими изоформами итурина. Выявлено, что итурин А в сравнении с другими итуринами проявляет более выраженную антифунгицидную активность.

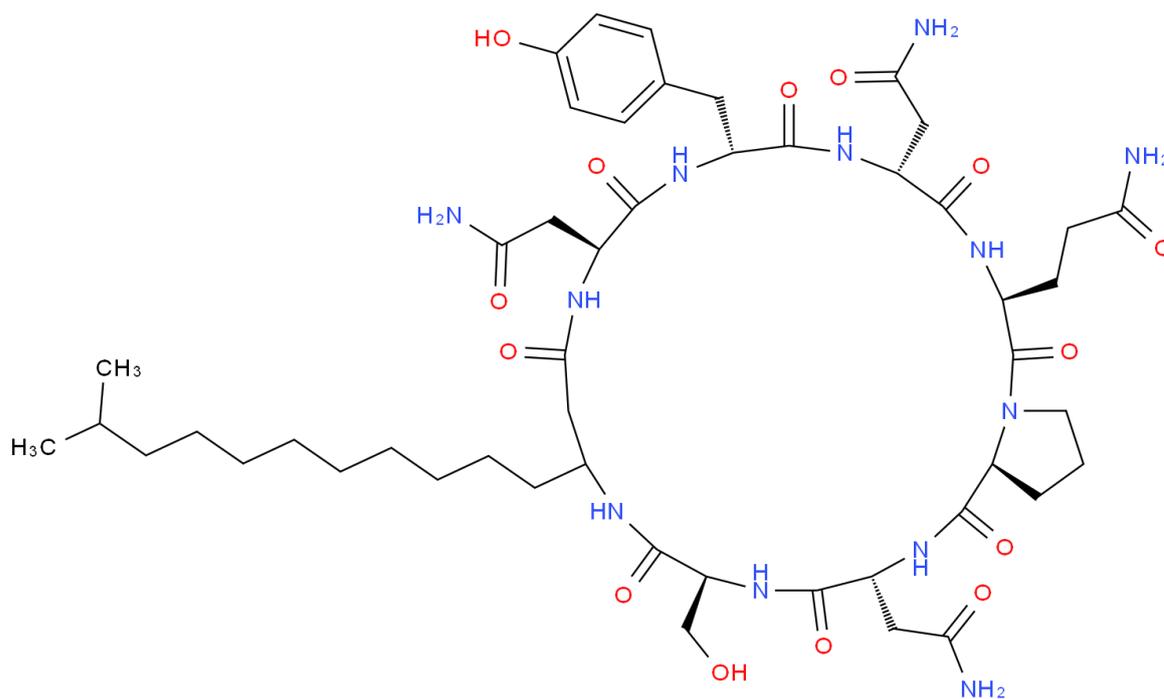


Рисунок 5. Структурная формула итурина А-4 [44]

Итурин А представлен циклическим липопептидом, состоящим из глутамина, липофильной β -аминокислоты, пролина, тирозина, серина и трёх молекул аспарагина. Наиболее ярким признаком группы итуринов является наличие у них липофильной β -аминокислоты. Эта особенность

отличает данную группу от других липопептидов. Стабилизация пептидного цикла итурина А происходит за счёт двух искажённых водородных связей CO-NH: CO-Glu реагирует с NH-L-Ser.

Итурину С в сравнении с итурином А не свойственна противогрибковая активность, а вместо аспарагильного остатка в его состав входит аспартильный остаток.

L- и D-формы аминокислот являются основой гептапептидного остова многих итуринов, кроме метиловых эфиров глутамина и аспарагина, составляющих итурин Е, образующиеся в процессе экстракции метанолом. Для итурина D и итурина Е свойственен почти такой же состав пептидного остова, как и у итурина А. Вероятно, что именно гидролизованная боковая цепь остатка глутамина или аспарагина, составлявших итурина А, дала начало глутамильному или аспартильному остатку итурина D. Доказательством этому служат метиловые эфиры, входящие в состав итурина Е, а β -аминокислоты такие же как в структуре итурина А. 3-аминотетрадекановая кислота, 3-амино-12- метилтетрадекановая кислота и 3-амино-13-метильтетрадекановая кислота являются ведущими компонентами итурина А. Возможно, что наличие свободной карбоксильной группы определяет антифунгицидную активность. Именно поэтому у итурина С отсутствует противогрибковое действие.

Оперон итурина А включает четыре открытые рамки считывания, а именно *ituA*, *ituB*, *ituC* и *ituD* [45]. *ituD* ответственен за кодирование малонил-КоА-трансацилазы (МСТ-домен), связанной с биосинтезом жирных кислот. В структуру *ituC*, *ituB* и *ituA* входят аминокислотно-активирующие модули, кодирующие пептид, а также субъединицы синтетазы бацилломицина D. Более того, у *ituC* на С-конце находится тиоэстеразный домен, благодаря которому осуществляется циклизация и высвобождение липогептапептидного интермедиата [46,47]. К бактериям, продуцирующим итурин А, относят *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*,

Bacillus amyloliquefaciens, *Bacillus methyltrophicus* и *Bacillus thuringiensis* [45,48-55].

1.1.6. Лихенизин: строение, синтез

Лихенизины – это ПАВ, являющиеся липопептидами, которым характерны антибиотические свойства. Данные вещества синтезируются некоторыми штаммами *Bacillus licheniformis* нерибосомально. У лихенизина есть несколько изоформ: лихенизин А, В, С, D и G.

Синтез лихенизина определяется работой оперона *lch*, состоящего из генов: *lchAA*, *lchAB*, *lchAC* и *lchA-TE*. Гены *lchAA*, *lchAB*, *lchAC* ответственны за кодирование соответствующих им белков, тогда как ген *lchA-TE* – за кодирование предполагаемой тиоэстеразы. Для оперонов, синтезирующих различные изоформы лихенизина, свойственно единство происхождения. Более того, наблюдается схожесть между опероном лихенизин-синтетазы и опероном сурфактин-синтетазы, а из этого следует, что у этих синтетаз механизм действия схож. Структура лихенизина определяется белковой матрицей, образующейся благодаря специфическому порядку сцепления в лихенизин-синтетазе.

Лихенизин А представлен смесью из 14 компонентов, размер которых колеблется от 992 до 1034 Да. В состав липидного фрагмента входят 14 β -гидроксигирных разветвлённых кислот, размер которых составляет от 12 до 17 атомов углерода. Вещество по строению представлено гептапептидом, то есть одна молекула образована семью аминокислотами. В основе пептидной части находятся следующие аминокислоты: валин, аспарагин, изолейцин и лейцин в количестве трёх молекул располагаются в виде С-концевой аминокислоты, а глутаминовая кислота в качестве N-концевой аминокислоты. Лактоновое кольцо с β -ОН-группой является липофильной частью молекулы, оно образовано концевой аминокислотой. Лихенизины, скорее всего, отличаются от сурфактина тем, что синтезируются продуцентами в период роста в аэробных и анаэробных условиях.

1.1.7. Фенгицин: строение, синтез

Фенгицин – это биологически активный липопептид, который синтезируется несколькими штаммами *Bacillus subtilis*. Доказано, что для фенгицина свойственна антифунгицидная активность в борьбе с нитчатыми грибами, а его гемолитическая активность в 40 раз меньше, чем у сурфактина. К семейству фенгицинов относится также плипастатин.

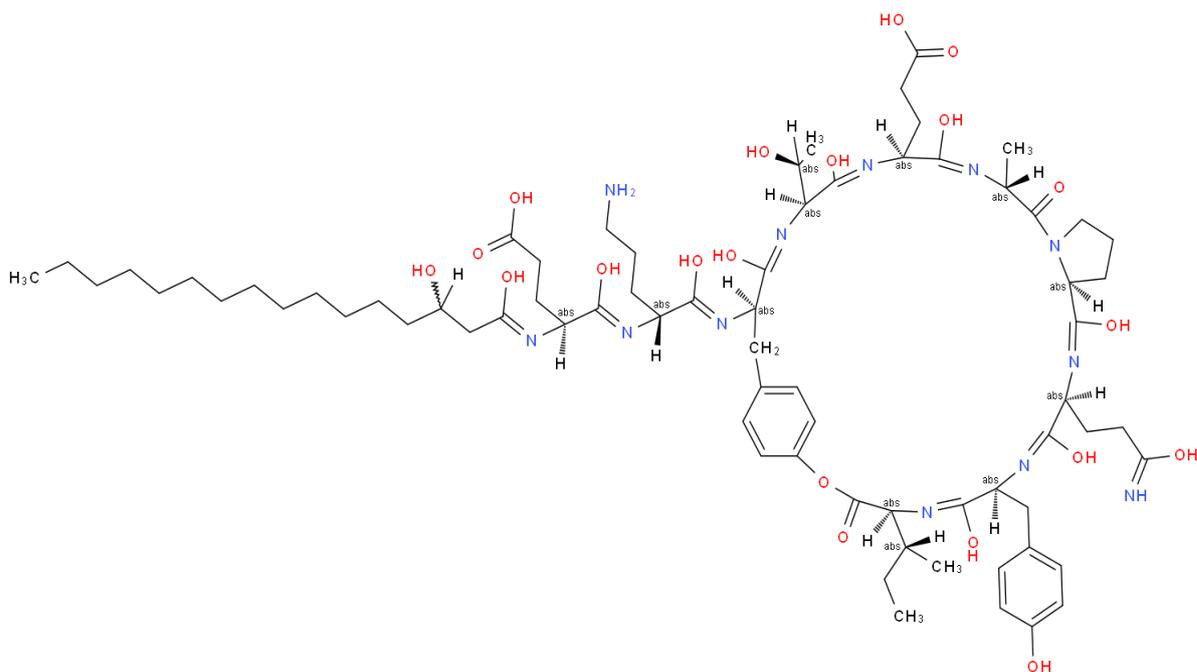


Рисунок 6. Структурная формула фенгицина [44]

Контроль нерибосомального синтеза фенгицина осуществляется опероном *fen*, состоящего из генов: *fenA*, *fenB*, *fenC*, *fenD* и *fenE*. Выявлено, что в синтезе фенгицина участвуют пять фенгицин-синтетаз: FenA (406 кДа), FenD (290 кДа), FenC (287 кДа), FenE (286 кДа) и FenB (146 кДа). *fenC*, являющийся первым геном оперона, кодирует два модуля активации аминокислот, которые регулируют активацию первых двух аминокислот молекулы фенгицина. Ген *fenB* ответственен за кодирование последнего модуля активации аминокислот.

Фенгицин представлен циклическим липопептидом. В основе фенгицина содержится анионный циклический декапептид с β -гидроксижирной кислотой, которая присоединена на N-конце. Пептидную

часть составляют следующие аминокислоты: D-орнитин, 2 молекулы D-тирозина, D-аланин, 2 молекулы L-глутаминовой кислоты, L-глутамин, L-пролин, L-тирозин и L-изолейцин. Образование пептидного кольца происходит посредством лактоновой связи между карбоксильной группой изолейцина в положении 10 и гидроксильной группой тирозина в положении 3. Для членов семейства фенгицинов характерна гетерогенность по положению 6 в пептидном фрагменте и по длине цепи β -гидроксижирной кислоты, варьирующаяся от 14 до 17 атомов углерода.

Классификация фенгицинов основана на вариации одной аминокислоты в положении 6. Фенгицины подразделяются на два класса, а именно фенгицин А и фенгицин В. Фенгицин А в положении 6 имеет аланин, заменяющийся в случае фенгицина В на валин.

1.2. Области применения биосурфактантов



Рисунок 7. Области применения биосурфактантов [56]

Биосурфактанты являются перспективным классом соединений. Благодаря низкой токсичности, возможности эффективно менять межфазное и поверхностное натяжения, температуро- и

кислотоустойчивости, уникальным физико-химическим и потребительским свойствам, экологической безопасности, биоразлагаемости биосурфактанты нашли широкое применение в разных сферах человеческой деятельности. Биосурфактанты способны стать достойной заменой синтетическим поверхностно-активным веществам в нефтяной и пищевой промышленности, производстве моющих и чистящих средств, области медицины, фармакологии, косметологии, а также в промышленной химии. Мотивация в использовании биосурфактантов связана с потребностью снижения экологической нагрузки на окружающий мир и производства более безопасной продукции в масштабах промышленности. В некоторых ситуациях использование биосурфактантов вместо синтетических ПАВ способствует повышению качества продукции, связанному с высокой стабильностью сурфактантов биологического происхождения в обширном диапазоне внешних условий.

1.2.1. Применение биосурфактантов в нефтяной промышленности.

Биосурфактанты нашли эффективное применение в нефтяной промышленности, когда осуществляется добыча битумов и тяжелых нефтей, а также в цикле переработки нефти [5,57,58]. Биосурфактанты способствуют очистке загрязненных резервуаров, увеличивают нефтеотдачу месторождений, а также облегчают перемещение непереработанной тяжелой нефти по трубопроводам [59]. Биосурфактанты активно применяются как агенты для микробиологического увеличения нефтедобычи (MEOR – Microbial enhanced oil recovery), основой которых являются культуры микроорганизмов-продуцентов, которые образуют самые разные биосурфактанты [60-62]. MEOR представлено процессами третичного извлечения нефти, при которых при добывании остаточной нефти используются микроорганизмы либо продукты их метаболизма. Продуценты синтезируют биологические ПАВ, влияющие на снижение

поверхностного натяжения породы и нефти, а связано это с уменьшением показателей капиллярных сил, которые препятствуют прохождению нефти сквозь поры породы. Биосурфактантам свойственно эмульгирование и разложение в горных породах масляной пленки. Микробиологическое увеличение нефтедобычи состоит из разных стратегий, а именно закачивание питательных веществ и микроорганизмов-продуцентов в резервуар, или синтез биосурфактантов и их последующее закачивание в пласт [60]. Методы MEOR, которые активизируют аборигенное микробное сообщество (изменяются внешние условия, вводятся определенные питательные вещества и т. д.), названы MEOR *ex situ*. Методы, которые предполагают внедрение в пласт нефти специализированных культур продуцентов или выработанных биологических сурфактантов микроорганизмами, именуется MEOR *in situ* [63]. Данные процессы способствуют увеличению получения нефти из малоресурсного источника, что позволяет продлить сроки его использования. Преимущество технологии MEOR заключается в её дешевизне в сравнении с химическими технологиями по увеличению нефтеотдачи, так как микроорганизма для производства эффективных продуктов необходимы недорогие субстраты и сырье.

Для того чтобы повысить нефтеотдачу с использованием MEOR были проведены полевые испытания в следующих странах: России, Австралии, Аргентине, США, Германии, Китае, Болгарии, Малайзии, Румынии, Индии, Норвегии, Перу, Венгрии, Польше и других странах [62,64-67]. К примеру, в Индии был сконструирован бактериальный консорциум, который продуцирует сурфактанты биологического происхождения, способные выдержать давление до 140 кг/см², соленость NaCl около 4–8% вес. и температуру 90 °С. Благодаря использованию этой конструкции на скважинах ONGC в Индии произошло увеличение нефтеотдачи в 3 раза [68]. А работа других консорциумов *Enterobacter hormaechei* PTCC 1799 и *Enterobacter cloacae* PTCC 1798 поспособствовала повышению нефтеотдачи

на 6.4% при применении MEOR *in situ* и на 9.85% в варианте *ex situ* [67]. Было выдвинуто предположение, что изменение адсорбции и смачиваемости бактериальных клеток, а также формирование бактериями биопленок приводит к увеличению нефтеотдачи. Например, увеличение нефтеотдачи остаточной нефти на 8.82% произошло при применении смеси гомологов рамнолипидов Rha-C8-C10 и Rha-Rha-C10-C14:1, которые продуцируются *P. aeruginosa NCIM 5514*, используемой при биоаугментации *ex situ* [62]. Другим примером является применение в работе микроорганизмов, продуцирующих биосурфактанты, а именно *Ps. Aeruginosa*, *B. subtilis* и *Rhodococcus erythropolis*, которые были выделены из пластовой воды [69]. Благодаря использованию MEOR *in situ* с микроорганизмами, указанными выше, произошло увеличение нефтеотдачи остаточной нефти на 14.3%. Представлено несколько трудов, которые открывают возможность использования рамнолипидов в качестве MEOR *in situ* из рекомбинантного штамма *Pseudomonas stutzeri Rhl* [70]. Благодаря высокопроизводительному секвенированию было выявлено, что внедрение бактерий *Ps. stutzeri Rhl* внесло значительные изменения в исходных микробных сообществах месторождений нефти и уменьшило количество бактерий, редуцирующих сульфаты, которые провоцируют угнетение роста продуцентов, синтезирующих рамнолипиды. В месторождениях нефти возможно использование биоаугментации с введением штамма *Ps. stutzeri Rhl*. Оно позволяет одновременно контролировать рост сульфатредуцирующих бактерий, удалять сероводород и увеличивать нефтеотдачу в результате роста числа образовавшихся биосурфактантов. Благодаря применению микроорганизмов *Ps. stutzeri Rhl*, ингибирующих сульфатредуцирующие бактерии, было достигнуто снижение образования H_2S на более 92%, а также увеличение синтеза рамнолипидов до 136 мг/л [70].

1.2.2. Применение биосурфактантов в сельском хозяйстве.

В сельском хозяйстве биосурфактанты применяются как агенты, осуществляющие биоремедиацию земли, загрязненной тяжелыми металлами и пестицидами [71-75], а также имеющие возможность более широкого применения благодаря антибактериальным и антифунгицидным свойствам [22]. По причине своих уникальных свойств биосурфактанты могут рассматриваться как перспективные агенты для биоконтроля, так как они являются безопасными для человека, растений и животных, но для них характерны выраженные антифунгицидная и антимикробная активности по отношению к фитопатогенам [65,66]. Более того, было выявлено, что биосурфактанты, в частности рамнолипиды, имеют не только антифунгицидную активность, но и являются хорошими стимуляторами для иммунной системы сельскохозяйственных растений [76,77-79].

1.2.3. Применение биосурфактантов в медицине, фармакологии и косметологии.

В косметологии и медицине биосурфактанты представляют собой безопасные аналоги синтетических поверхностно-активных веществ, а также вспомогательные компоненты косметических и медицинских средств. Существует несколько источников, в которых говорится об использовании сурфактантов биологического происхождения для производства наночастиц [21,80-82] и микроэмульсий [83-85] медицинского назначения. Они могут использоваться в качестве основы или компонентов разных систем, доставляющих лекарства до мишени, в том числе таргетных, потому что имеют мицеллярную природу, позволяющую им формировать стабильные липосомы, которые могут образовывать вокруг лекарства оболочку, тем самым обеспечивая защиту лекарства от повреждений, способствуя его стабильному выходу и зависимости доза-эффект [83,86-88]. Биосурфактанты способны сохранять свои характеристики в ситуациях, когда внешние условия среды варьируют в широком диапазоне. Благодаря

этим достоинствам они являются идеальной основой разных лекарственных форм (жевательных форм, аэрозолей и жидкостей), что, к примеру, считается очень актуальным при производстве препаратов для лечения легочных заболеваний [89].

Для биосурфактантов свойственны антифунгицидная, противомикробная, антиадгезивной, антибиотикопленочной и противовирусной активности. В связи с этим они могут использоваться в качестве основных действующих веществ в разрабатываемых лекарственных средствах. К примеру, в период распространения коронавирусной инфекции COVID-19 многими учеными рассматривается возможность использования биосурфактантов как безопасные и эффективные моющие средства. Авторы работы считают [90], что применение биосурфактантов в процессе гигиенических и обеззараживающих процедур является более безопасным аналогом существующих процедур. Более того, биосурфактанты могут использоваться при лечении пациентов, которым диагностировали коронавирусную инфекцию, в частности, в борьбе с симптомами, причиной которых является острый респираторный дистресс синдром (ОРДС) [90]. Биосурфактанты способны бороться не только с симптомами вирусной инфекции, но и непосредственно с самим вирусом, инактивируя его, за счет взаимодействия с суперкапсидом [89-92]. Для циклоспорина А – биопептида, продуцируемого *Tolypocladium inflatum*, свойственно подавление распространения вируса гриппа, за счет воздействия циклоспорина на цикл размножения и встраивания вируса [93,94]. При применении циклоспорина А нет влияния на репликацию РНК или адсорбцию вируса, однако происходит ингибирование стадий, следующих за биосинтезом белка, такие как почкование или сборка вируса [94]. Эти процессы являются очень важными, благодаря почкованию вирусы покидают клетки-хозяев и прикрепляются к производным мембранам,

которые обогащены белками вируса, способствуя тем самым распространению инфекции [95,96].

Изучается возможность применения биосурфактантов как компоненты иммуномодуляторов и вакцин. Одно из исследований выявило способность синтетических липопептидных вакцин стимулировать синтез вирус-специфических цитотоксических Т-лимфоцитов связывающихся с эпитопом нуклеопротеина гриппа [97], что представляет собой хорошее подспорье в поиске липопептидов, которые имеют аналогичное действие. Похожие результаты получились при работе с ВИЧ-1 и вирусом ящура [98,99]. Софоролипидам присуща демонстрация противовоспалительных и иммуномодулирующих свойств, как пример, их использование повысило выживаемость при инфекционном заражении крови у животных при проведении экспериментов [100]. Кроме того, для софоролипидов свойственно проявление активности по отношению к вирусу герпеса и ВИЧ при их преобразовании за счет ацетилирования головных групп софорозы. Возможно, что подобная модификация способствуют повышению гидрофильности софоролипидов, усиливая таким образом их цитокин-стимулирующие и противовирусные свойства [101,102].

1.2.4. Применение биосурфактантов в пищевой промышленности.

В пищевой промышленности является актуальным использование биосурфактантов как пищевые добавки и функциональные компоненты [101]. К примеру, для некоторых дрожжей свойственно синтезировать биосурфактанты, обладающие высокой термостойкостью, нетоксичностью, антиоксидантной активностью, отсутствием потенциальной патогенности, благодаря чему становится возможным введение их в состав пищевых продуктов. Например, поступило предложение о замене яичного желтка в процессе промышленного производства печенья на биосурфактант, который продуцируется *Saccharomyces cerevisiae* [68,103]. Биосурфактанты

применяются в качестве эмульгаторов, антиоксидантных и антиадгезивных агентов. Маннопротеин, выделенный из *Saccharomyces cerevisiae*, успешно использовался как стабилизатор масла и воды при получении эмульсий для производства печенья, мороженого и майонеза [104]. Дрожжи *Candida utilis*, *Candida valida*, *Rhodotorula graminis*, *Rhodospiridium diobovatum*, *Hansenula anomala*, бактерии *Klebsiella sp.*, *Acinetobacter calcoaceticus*, красная водоросль *Porphyridium cruentum* представляют собой продуценты, которые синтезируют внеклеточные биоэмульгаторы, отличающиеся большей стабилизирующей активностью, чем традиционные эмульгаторы [68]. Биосурфактантам как агентам свойственны снижение поверхностного, межфазного натяжений и усиление стабилизации образования эмульсии, они используются и в иных областях пищевой промышленности, в том числе улучшение консистенции и текстуры продуктов на жировой основе, агломерацию жировых компонентов, стабилизацию аэрированных систем, контроль текстуры и срока хранения крахмалосодержащих продуктов и изменение реологических свойств теста из пшеничной муки [68,105]. Биосурфактанты включались в рецептуры при изготовлении мучных изделий и мороженого для того, чтобы улучшить консистенцию, отсрочить микробное увядание, сольобилизовать масла, стабилизировать жиры и предотвратить разбрызгивание [68,105]. Рамнолипиды улучшают текстуру теста, повышают стабильность, сохраняют объем и консервируют хлебобулочные изделия. L-рамноза, входящая в состав рамнолипидов, уже нашла применение в пищевой промышленности как предшественник высококачественных ароматизаторов, таких как фуранеол (клубничный фуранон) [106]. Биосурфактанты могут использоваться как антиоксидантные агенты. К биосурфактантам с доказанной *in vitro* антиоксидантной активностью относятся липиды маннозилэритрита [107]. Подобная особенность наблюдалась у биосурфактанта, который был получен из *B. Subtilis* [108]. Более того, полисахаридный биосурфактант, который продуцируется *Klebsiella*, может подавлять перекисное окисление

масла из сои за счёт инкапсуляции [104]. Для некоторых биосурфактантов свойственно проявление антиадгезивной и антимикробной активностей. Имеются данные, что у рамнолипидов и сурфактина на поверхности полистирола проявляется антиадгезивная активность по отношению к *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus* и *Listeria monocytogenes* [109]. Дрожжи *Candida sphaerica* UCP0995 продуцируют лунасан, который полностью подавляет адгезию некоторых штаммов *Candida*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* и *Pseudomonas* на пластиковых планшетах, предназначенных для культивирования тканей [110]. Те же исследователи описали антимикробную и антиадгезивную активности руфизана, поверхностно-активного соединения, который продуцируется дрожжами *Candida lipolytica* [111]. Благодаря антиадгезивной активности биосурфактанты могут применяться как покрывающие агенты для посуды, которая используется при употреблении пищи или в процессе производства пищевых продуктов.

1.2.5. Применение биосурфактантов в производстве моющих и чистящих средств.

В сфере производства моющих и чистящих средств биосурфактанты являются основными претендентами на замену ПАВ синтетического происхождения. В основном гликолипиды, а именно рамнолипиды, софоролипиды и липиды манносилэритрита входят в состав чистящих и моющих средств. Например, компании Ecover, Saraya и Henkel, добавляют софоролипиды в процессе производства средств для мытья посуды, чистки и стирки, а Evonik, BASF, Unilever и TeeGene используют в своей продукции рамнолипиды и липопептидные биосурфактанты [112, 113, 114, 115-127].

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Объекты исследования

Штамм *Bacillus altitudinis* API-2019 был выделен из помета медоносной пчелы *Apis mellifera mellifera* L. Аэробные клетки *Bacillus altitudinis* грамположительны, подвижны, палочковидной формы. Культуральные свойства: колонии белого цвета, блестящие, с гладкой и выпуклой поверхностью, ровным краем, 2-3 мм в диаметре. Растут в температурных пределах от 20 °С до 40 °С, диапазон рН 6-8. Биохимические свойства: положительные результаты на каталазу, оксидазу, β-галактозидазу, образует кислоту при гидролизе D-глюкозы, гидролизует крахмал, желатин и амилазу. Не образует индола, не гидролизует казеин и мочевины, не восстанавливает нитраты и тест Фогеса-Проскауэра дает отрицательные результаты [128].

В работе были использованы два штамма, относящиеся к виду *Bacillus subtilis*: *B. subtilis* TA-3 и *B. subtilis* TA-8. Клетки штаммов короткие, тонкие, неподвижные, грамположительные, палочковидной формы. Размер клеток составляет (0,5–2,5) × (3,0–5,0) мкм, они располагаются одиночно или цепочками. Культуральные свойства: на МПА *Bacillus subtilis* формирует сухие морщинистые или бархатистые плоские колонии с волнистым краем, розоватые или бесцветные. Оптимальным является температурный диапазон от 25 °С до 37 °С [129]. Биохимические свойства: положительные результаты на каталазу, нитратредуктазу, β-галактозидазу, производство H₂S, гидролизует желатин, казеин, эскулин, производит кислоты при гидролизе галактозы, D-глюкозы, D-фруктозы, D-маннозы, маннита и мальтозы. Отрицательные результаты на оксидазу и уреазу, не образует индол [130].

Штаммы *Bacillus cereus* DG-1, *Bacillus cereus* DG-5, *Bacillus cereus* DG-6 и *Bacillus cereus* DG-7, использованные в данном исследовании, обладали короткими, толстыми, подвижными клетками, размер которых

составляет $(3-5) \times (1,0-1,5)$ мкм, одиночным либо соединенным в цепочки [129]. Культуральные свойства: колонии толстые, восковидные, матовые со складчатым центром и ризоидными волнистыми краями, иногда мелкобугристые с бахромчатыми краями, с отходящими тонкими сплетениями нитей. Оптимум pH варьирует от 7 до 9,5, температурный оптимум роста составляет 30 °С [131]. Биохимические свойства: положительные результаты на каталазу, фосфатазу, лецитиназу, тест Фогеса-Проскауэра, редукцию нитратов до нитритов, утилизацию цитрата, расщепление тирозина. Образует кислоту при гидролизе мальтозы, не образует H₂S. Не гидролизует арабинозу, галактозу, маннит и ксилозу. Гидролиз казеина и эскулина является переменным признаком [132].

Бактерии штамма *Serratia plymuthica* TV-4, примененные в сравнительном анализе, имели грамтрицательные, капсулированные, укороченные, неспороносные палочки, размер которых варьировал в диапазоне 0,5-0,8×1,0-2,5 мкм. Факультативные анаэробы. Культуральные свойства: колонии белесые, круглые, блестящие с ровным краем. Оптимальный температурный диапазон 30-37 °С. Биохимические свойства: восстанавливает нитрат, утилизирует цитрат, гидролизует желатин, образует кислоты при гидролизе глюкозы, лактозы, маннита, сахарозы и мальтозы. Отрицательные результаты на уреазу, амилазу, на образование индола и H₂S [133].

2.2. Приготовление питательных сред для культивирования штамма *Bacillus altitudinis* API-2019

Для культивирования *Bacillus altitudinis* API-2019 использовали питательный бульон [Бруцелла-бульон] (г/л): панкреатический гидролизат казеина (ПГК) – 10,0; пептон мясной -10,0; D-глюкоза -2,0; дрожжевой экстракт -3,0; натрий хлористый – 5,0; натрий пироксернистокислый – 0,1. Приготовление: в 1000 мл дистиллированной воды добавили 30,0 г питательной среды, перемешали, кипятили в течение 1-2 минут,

фильтровали через ватно-марлевый фильтр. Разлили во флаконы и стерилизовали автоклавированием при температуре 121 °С в течение 15 минут. Далее бульон, использовавшийся для оживления штамма, добавили во флакон и инкубировали в термостате в течение 24 ч. при 37 °С.

Состав кровяного агара (г/л): настой говяжьего сердца – 500,00; триптоза – 10,00; NaCl – 5,00; агар-агар – 15,00. Приготовление: в 1000 мл дистиллированной воды добавили 40,0 г порошка. Прокипятили до полного растворения частиц, стерилизовали автоклавированием при 121 °С в течение 15 мин. Остудили до 50 °С и внесли до 5% дефибрированную кровь. Перемешали и разлили в чашки Петри.

2.3. Приготовление питательной среды для культивирования штаммов *B. cereus DG-1*, *B. cereus DG-5*, *B. cereus DG-6*, *B. cereus DG-7*, *B. subtilis TA-3*, *B. subtilis TA-8*, *Serratia plymuthica TV-4*, консорциума штаммов VM-2

Состав МПА (г/л): пептон — 10,0 г; натрия хлорид — 5,0 г; агар - 15 г; вода мясная — 1000,0 мл. Приготовление: смесь прокипятили на слабом огне при постоянном помешивании до полного растворения добавленных ингредиентов. Бульон профильтровали, установили рН 7,4 и добавили 15 г измельченного агара. После добавления агара среду кипятили на слабом огне при постоянном помешивании до полного растворения агара. Приготовленную среду разлили во флакон, простерилизовали в автоклаве при 121 °С в течение 20 мин и разлили в чашки Петри.

2.4. Метод посева бактерий

При посеве культур применялся метод Голда - метод секторных посевов. Каждую чашку с агаром разделили на 3 сектора. Первый сектор заседали культурой с помощью петли частыми штрихами, далее петлю стерилизовали (фламбировали). Потом более редкими параллельными

штрихами с использованием петли осуществляли перенос бактерий из первого сектора во второй, после чего вновь фламбировали петлю. Аналогично стерильной петлей переносили бактерии из второго сектора в третий.

2.5. Идентификация штаммов

При идентификации объектов исследований применялась система VITEK[®] MS, позволяющая провести определение микроорганизмов методом масс-спектрометрии с использованием технологии MALDI TOF. В основе данной системы идентификации лежит метод масс-спектрометрии с применением технологии MALDI TOF. Под MALDI TOF подразумевают времяпролетную матрикс-активированную лазерную десорбционную и ионизационную масс-спектрометрию.

Для идентификации микроорганизмов отбирали отдельную колонию и наносили её на слайд. Далее к этому образцу добавляли матрикс ССНА. Слайд вставляли в прибор, где на него происходило воздействие лазером, при этом матрикс испарялся, и образец приобретал электрический заряд. По измерению времени, за которое образцы достигают детектора определялся спектр, который сравнивался с базой данных [134].

2.6. Выделение препаратов ДНК

- Приготовление бактериальной суспензии для каждой из 9 исследуемых культур.
- Выделение НК. Для выделения ДНК использовался набор реагентов «РеалБест экстракция 100»:
 1. В пробирки внесли по 100 мкл исследуемых образцов.
 2. В каждую пробирку, не задевая стенок, внесли по 300 мкл лизирующего раствора с сорбентом; перемешали содержимое пробирок на вортексе в течение 10-15 секунд и выдержали в термошейкере с частотой вращения 1300 об/мин при 65 °С в

течение 15 минут. Коротким центрифугированием сбросили капли со стенок пробирок.

3. В каждую пробирку с анализируемыми образцами внесли 400 мкл осадителя НК; перемешали содержимое пробирок на вортексе в течение 10-15 секунд и центрифугировали при 1300 об/мин при комнатной температуре в течение 5 минут.
4. Не взбалтывая осадок, установили пробирки в магнитный штатив и из каждой пробирки с помощью отсасывателя с отдельным наконечником отобрали надосадочную жидкость, не задевая осадок.
5. В каждую пробирку к осадку добавили 500 мкл раствора для отмывки № 1, перемешали содержимое пробирок на вортексе в течение 10-15 секунд и центрифугировали на микроцентрифуге при 1300 об/мин в течение 2 минут.
6. Не взбалтывая осадок, установили пробирки в магнитный штатив и из каждой пробирки с помощью отсасывателя с отдельным наконечником отобрали надосадочную жидкость, не задевая осадок.
7. В каждую пробирку к осадку добавили 300 мкл раствора для отмывки № 2, перемешали содержимое пробирок на вортексе в течение 10-15 секунд и центрифугировали на микроцентрифуге при 1300 об/мин в течение 2 минут.
8. Не взбалтывая осадок, установили пробирки в магнитный штатив и из каждой пробирки с помощью отсасывателя с отдельным наконечником отобрали надосадочную жидкость, не задевая осадок.
9. Высушили осадки в открытых пробирках при комнатной температуре в течение 2-3 минут и в каждую пробирку к осадку добавили 200 мкл элюирующего раствора.

10. Тщательно перемешали на вортексе, ресуспендируя магнитный осадок; инкубировали в термошейкере с частотой вращения 1300 об/мин при 65 °С в течение 5 минут и центрифугировала на микроцентрифуге при 1300 об/мин в течение 1 минуты.

2.7. Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР)

Метод ПЦР основан на катализируемой ДНК-полимеразой реакции, который позволяет амплифицировать малые концентрации определённых фрагментов ДНК в биологическом материале в миллионы раз в течение нескольких часов. Полимеразная цепная реакция была разработана в 1983 году американским ученым Кэри Муллисом.

Для проведения полимеразной цепной реакции использовали реакционную смесь следующего состава: образец, Taq – полимеразы, смесь dNTP (дезоксинуклеозидтрифосфаты), праймеры, ионы Mg²⁺, буфер и деионизированная вода.

Полимеразная цепная реакция состоит из 20-40 циклов и включает в себя 3 этапа:

1. Денатурация. В течение этого этапа происходит разрушение водородных связей между двумя цепями ДНК за счет кратковременного нагревания пробирки со смесью до 94-98 °С. Происходит превращение двуцепочечной ДНК-матрицы в одноцепочечную, что делает возможным присоединение праймеров к комплементарным участкам.
2. Отжиг праймеров. На данной стадии осуществляется снижение температуры до 50-60 °С. Оптимально подобранная температура отжига праймеров необходима, чтобы праймеры присоединились к тем участкам ДНК, которые им полностью комплементарны.
3. Элонгация. На данном этапе происходит подъем температуры до 72 °С, так как эта температура является оптимальной для

функционирования Taq-полимеразы. Фермент удлиняет праймеры в направлении 5'-3', синтезируя дочерние цепи [135,136].

Для проведения ПЦР в режиме реального времени были выбраны праймеры, позволяющие определить присутствие в геномах бактерий гены, которые кодируют синтез итурина А, лихенизина, сурфактина и фенгицина. Ниже представлена таблица, содержащая характеристики каждого из праймеров (таблица №2).

Таблица №2

Праймеры для скрининга сурфактантов методом ПЦР

	Ген	Последовательность праймеров	Размер праймера	Темп. отжига (°C)	Авторы работ
Iturin A	<i>ituC</i>	F-5'GGCTGCTGCAGATGCTTTAT 3' R-5'TCGCAGATAATCGCAGTGAG 3'	20 20	58	I. Mora, J. Cabrefiga, E. Montesinos
	<i>ituD</i>	F-5'TTGAAYGTCAGYGCSCTTT 3' R-5'TGCGMAAATAATGGSGTCGT 3'	20 20	57	
Lichenisin	<i>lchAA</i>	F-5'ACTGAAGCGATTCGCAAGTT 3' R-5'TCGCTTCATATTGTGCGTTC 3'	20 20	56	E.H. Madslie, H.T. Rønning, T. Lindbäck, B. Hassel, M. Andersson, P.E. Granum
Surfactin	<i>sfp</i>	F-5'ATGAAGATTTACGGAATTTA 3' R-5'TTATAAAAGCTCTTCGTACG 3'	20 20	50	I. Mora, J. Cabrefiga, E. Montesinos
	<i>srfaA</i>	F-5'TCGGGACAGGAAGACATCAT 3' R-5'CCACTCAAACGGATAATCCTGA 3'	20 22	60	
Fengycin	<i>fenB</i>	F-5'CCTGGAGAAAGAATATACCGTACCY 3' R-5'GCTGGTTCAGTTKGATCACAT 3'	25 21	57	I. Mora, J. Cabrefiga, E. Montesinos
	<i>fenD</i>	F-5'GGCCCGTTCTCTAAATCCAT 3' R-5'GTCATGCTGACGAGAGCAAA 3'	20 20	60	

Для выявления в составе геномов бактерий каждого из 7 генов были подобраны отдельные программы амплификации.

Таблица №3

Программа амплификации гена *ituC*

	Температура	Время	Количество циклов
Начальная денатурация	95 °С	4 мин	1
Денатурация	94 °С	1 мин	35
Отжиг	58 °С	30 с	
Элонгация	70 °С	1 мин	
Финальное удлинение	70 °С	5 мин	1

Таблица №4

Программа амплификации гена *ituD*

	Температура	Время	Количество циклов
Начальная денатурация	95 °С	4 мин	1
Денатурация	94 °С	1 мин	35
Отжиг	57 °С	30 с	
Элонгация	70 °С	1 мин	
Финальное удлинение	70 °С	5 мин	1

Программа амплификации гена *lchAA*

	Температура	Время	Количество циклов
Начальная денатурация	95 °С	5 мин	1
Денатурация	95 °С	10 сек	35
Отжиг	56 °С	10 с	
Элонгация	72°С	30 сек	
Финальное удлинение	72 °С	7 мин	1

Программа амплификации гена *sfp*

	Температура	Время	Количество циклов
Начальная денатурация	95 °С	4 мин	1
Денатурация	94 °С	1 мин	35
Отжиг	50 °С	30 с	
Элонгация	70 °С	1 мин	
Финальное удлинение	70 °С	5 мин	1

Программа амплификации гена *srfAA*

	Температура	Время	Количество циклов
Начальная денатурация	95 °С	4 мин	1
Денатурация	94 °С	1 мин	35
Отжиг	60 °С	30 с	
Элонгация	70 °С	1 мин	
Финальное удлинение	70 °С	5 мин	1

Программа амплификации гена *fenB*

	Температура	Время	Количество циклов
Начальная денатурация	95 °С	4 мин	1
Денатурация	94 °С	1 мин	35
Отжиг	57 °С	30 с	
Элонгация	70 °С	1 мин	
Финальное удлинение	70 °С	5 мин	1

Программа амплификации гена *fenD*

	Температура	Время	Количество циклов
Начальная денатурация	95 °С	4 мин	1
Денатурация	94 °С	1 мин	35
Отжиг	60 °С	30 с	
Элонгация	70 °С	1 мин	
Финальное удлинение	70 °С	5 мин	1

ПЦР в реальном времени проводилось согласно инструкции разработчика и производителя набора реагентов «СИНТОЛ» с использованием 2.5x реакционной смеси для проведения ПЦР-РВ в присутствии EVA Green.

Ход работы:

1. Осуществить разморозку пробирок, включающих реакционную смесь, праймеры и образцы ДНК, расположив их в штативе. Далее необходимо с осторожностью перемешать содержимое пробирок на вортексе.
2. Взять нужное количество стерильных пробирок для ПЦР объёмом 0,2 мл с выпуклой крышкой, маркировать и расположить пробирки в штативе в определённом порядке.
3. Приготовить смесь для проведения полимеразной цепной реакции (расчет на 1 пробирку): dd H₂O – 9 мкл, прямой праймер – 1мкл, обратный праймер – 1 мкл, MgCl₂ – 1 мкл, реакционная смесь – 10

мкл, исследуемый образец – 3 мкл. Для каждой пробирки применяется отдельный наконечник с фильтром.

4. Произвести ПЦР в режиме реального времени с использованием программ амплификации генов.
5. Осуществить сравнительный анализ полученных результатов.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

В начале экспериментальной работы была проведена идентификация объектов исследований с применением системы VITEK® MS, позволяющей с высокой производительностью в предельно короткое время получить результаты определения микроорганизмов методом масс-спектрометрии с использованием технологии MALDI TOF, подразумевающей времяпролетную матрикс-активированную лазерную десорбционную и ионизационную масс-спектрометрию.

По результатам идентификации анализируемых образцов было проведено определение объектов исследования, а именно штаммов: *Bacillus cereus* DG-1, *Bacillus cereus* DG-5, *Bacillus cereus* DG-6, *Bacillus cereus* DG-7, *Bacillus subtilis* TA-3, *Bacillus subtilis* TA-8 и *Serratia plymuthica* TV-4.

В ходе работ оказалось, что определение одного из образцов не представлялось возможным. Характер MALDI TOF графика позволил предположить, что этот образец содержит смесь штаммов. В работе он был обозначен как консорциум штаммов VM-2.

Ниже представлены рисунки №№ 8-14, отражающие графики зависимости интенсивности ионного тока от отношения массы к заряду, полученные в ходе исследований штаммов с применением системы VITEK® MS.

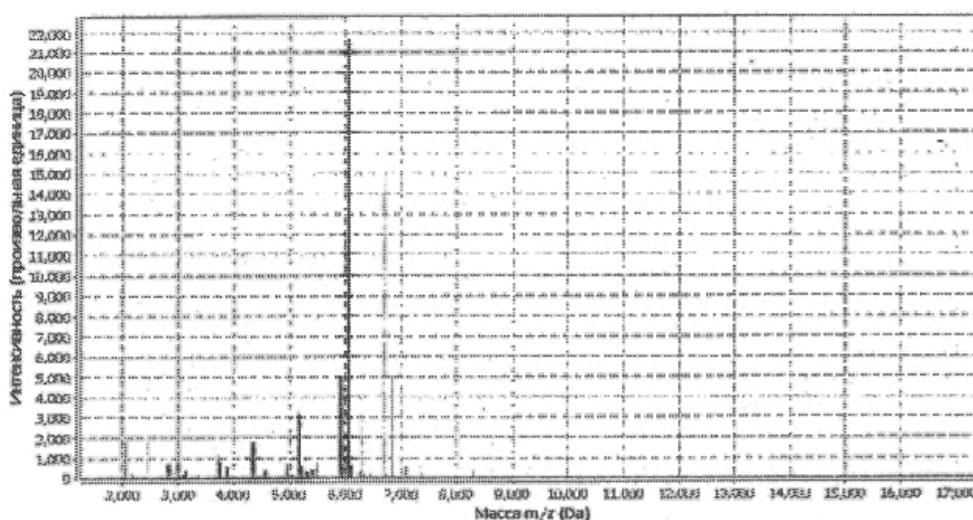


Рисунок 8. График, отражающий зависимость интенсивности ионного тока от отношения массы к заряду, полученный при идентификации в системе VITEK® MS штамма *Bacillus cereus* DG-1

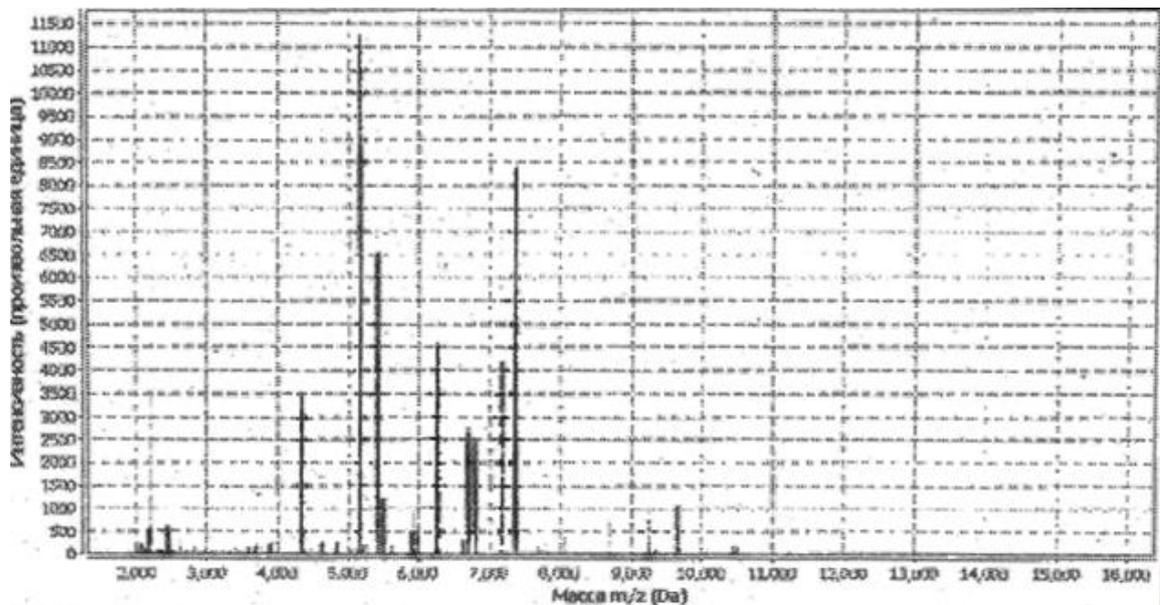


Рисунок 9. График, отражающий зависимость интенсивности ионного тока от отношения массы к заряду, полученный при идентификации в системе VITEK[®] MS штамма *Bacillus cereus* DG-5

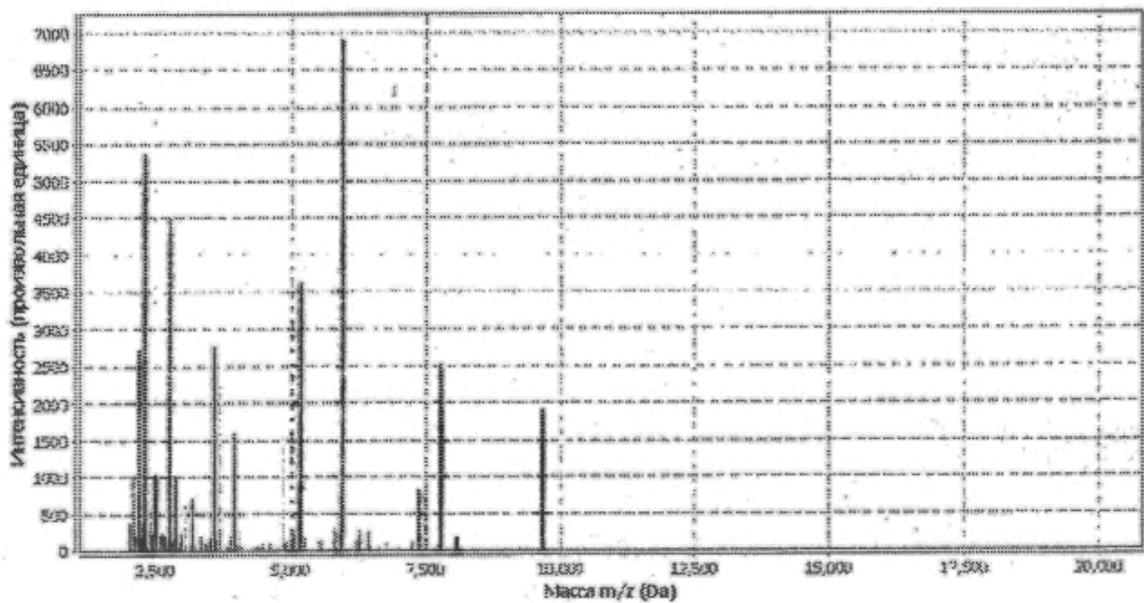


Рисунок 10. График, отражающий зависимость интенсивности ионного тока от отношения массы к заряду, полученный при идентификации в системе VITEK[®] MS штамма *Bacillus cereus* DG-6

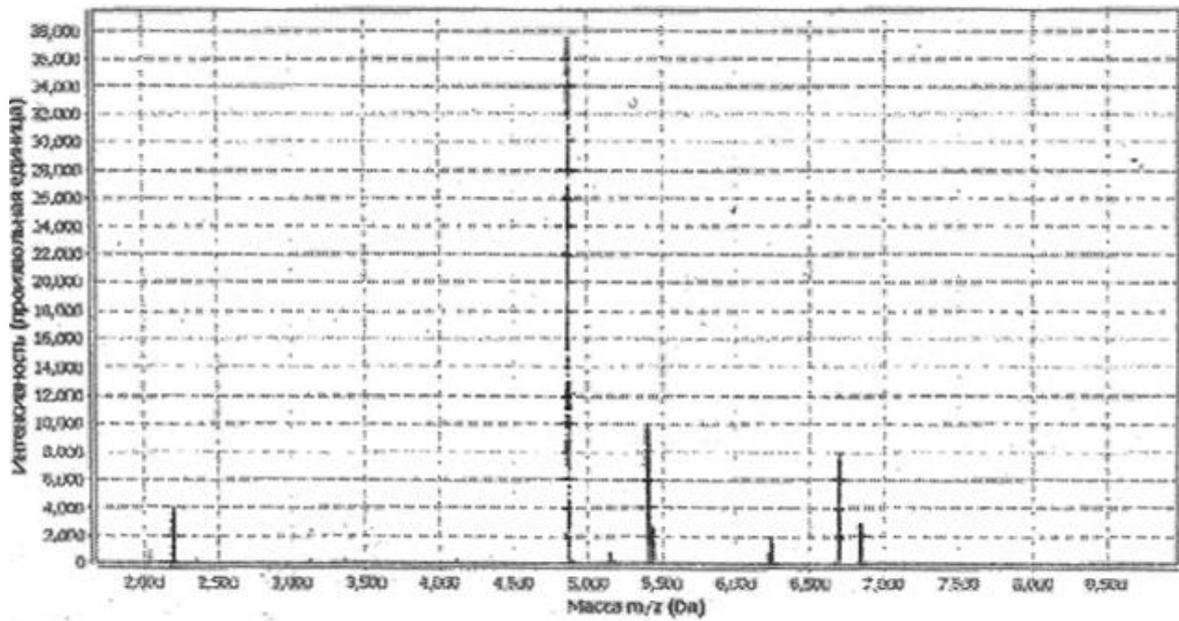


Рисунок 11. График, отражающий зависимость интенсивности ионного тока от отношения массы к заряду, полученный при идентификации в системе VITEK[®] MS штамма *Bacillus cereus* DG-7

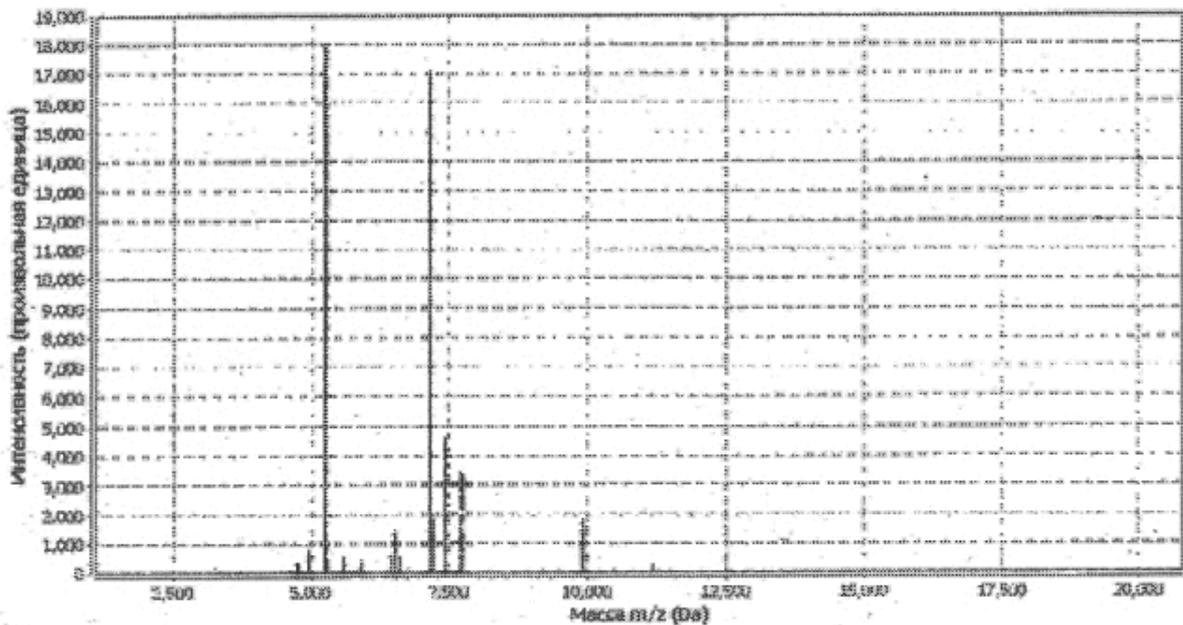


Рисунок 12. График, отражающий зависимость интенсивности ионного тока от отношения массы к заряду, полученный при идентификации в системе VITEK[®] MS штамма *Bacillus subtilis* TA-3

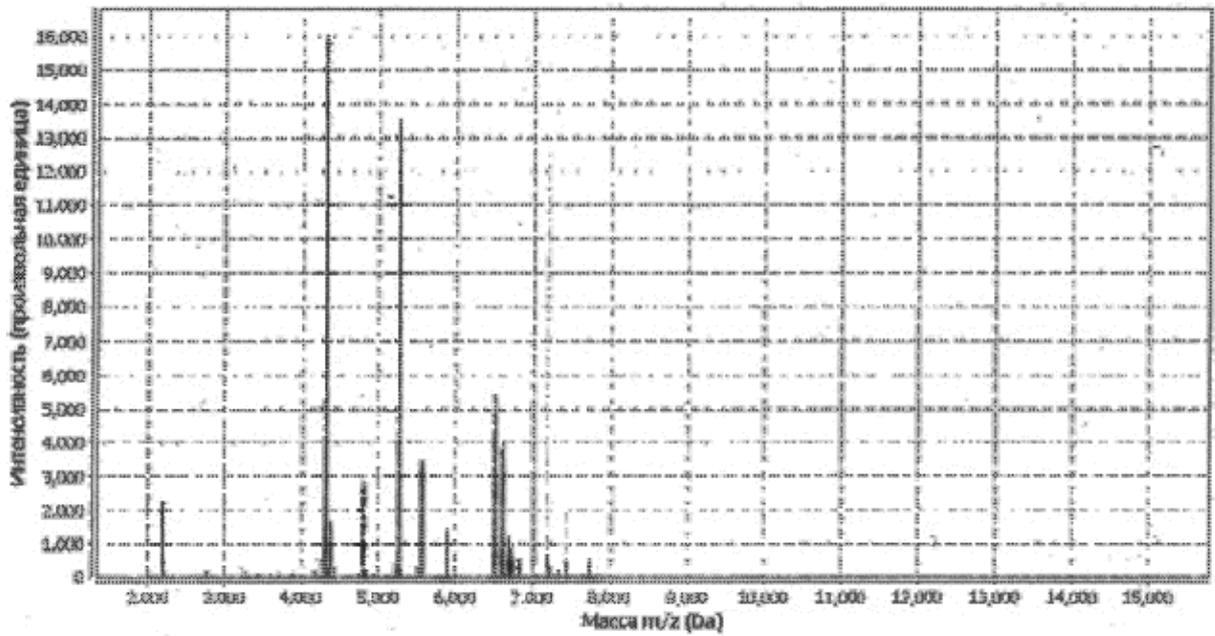


Рисунок 13. График, отражающий зависимость интенсивности ионного тока от отношения массы к заряду, полученный при идентификации в системе VITEK[®] MS штамма *Bacillus subtilis* TA-8

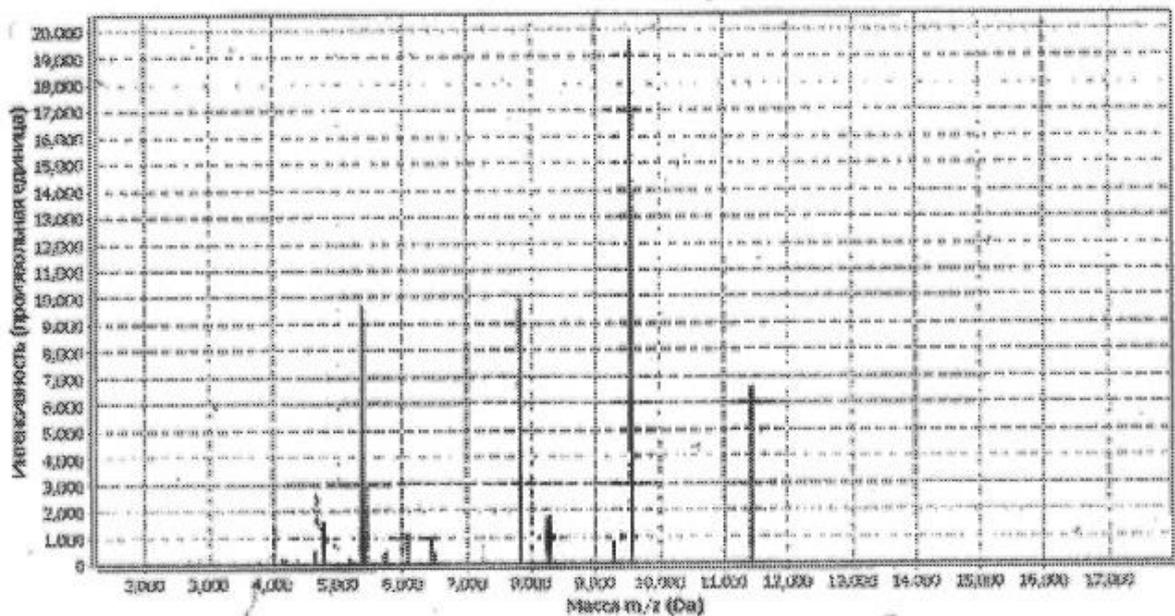


Рисунок 14. График, отражающий зависимость интенсивности ионного тока от отношения массы к заряду, полученный при идентификации в системе VITEK[®] MS штамма *Serratia plymuthica* TV-4

Дальнейший скрининг генов, кодирующих синтез сурфактина, фенгицина и итурина у исследуемых штаммов, осуществлялся с использованием ПЦР в реальном времени.

Положительным результатом ПЦР-РВ считался подъем кривых до 30 цикла при условии, что отсутствовал подъем кривых у контроля. Если наблюдался рост кривой с контрольной пробой или был отмечен подъем кривых после 30 цикла, то результат рассматривался как отрицательный.

На рисунках 15 и 16 отражены особенности накопления продуктов амплификации при использовании праймера гена *sfp*.

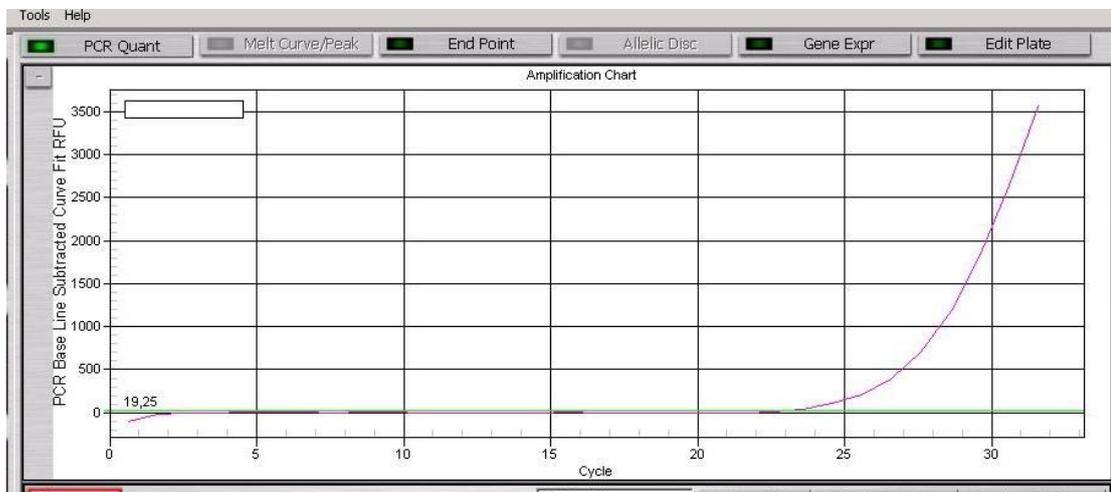


Рисунок 15. График накопления амплификата гена *sfp*, выявленного у штамма *B. cereus* DG-5 в режиме ПЦР в реальном времени

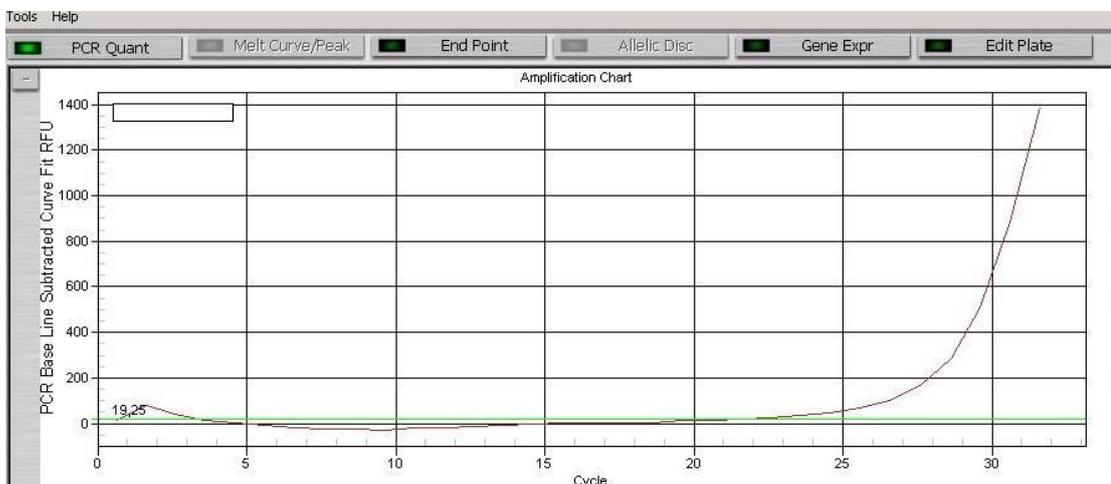


Рисунок 16. График накопления амплификата гена *sfp*, выявленного у штамма *B. cereus* DG-6 в режиме ПЦР в реальном времени

Графики указывают на присутствие в геномах *Bacillus cereus* DG-5 и DG-6 гена *srf*, регулирующего синтез сурфактина.

Рисунок 17 содержит информацию об увеличении количества амплификатов при использовании праймера гена *srfAA*.

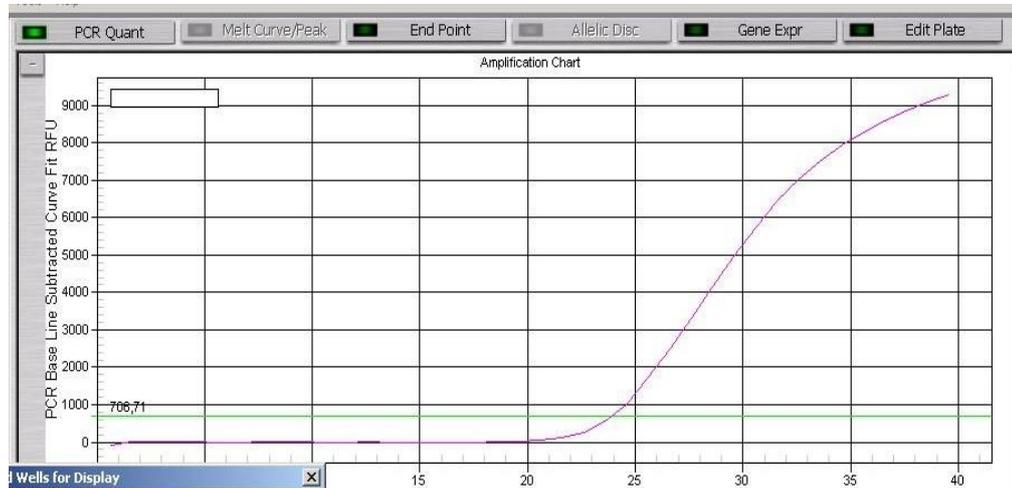


Рисунок 17. График накопления амплификата гена *srfAA*, выявленного у штамма *B. subtilis* TA-8 в режиме ПЦР в реальном времени

Благодаря анализу данного графика становится очевидным присутствие в геноме *Bacillus subtilis* TA-8 гена *srfAA*, ответственного за синтез сурфактина.

Из графиков, зафиксированных на рисунках 18 и 19, видно накопление ампликонов с использованием праймера гена *ituD* и праймера гена *fenD*.

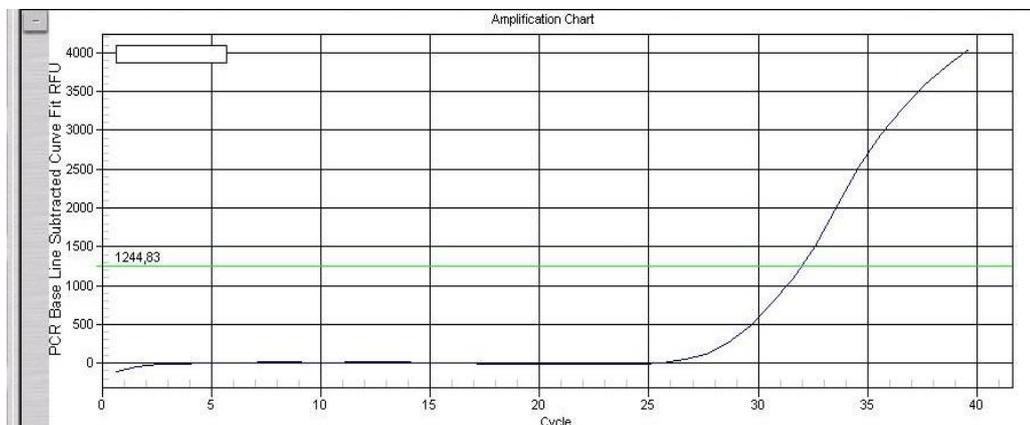


Рисунок 18. График накопления амплификата гена *ituD*, выявленного у штамма *B. altitudinis* API-2019 в режиме ПЦР в реальном времени

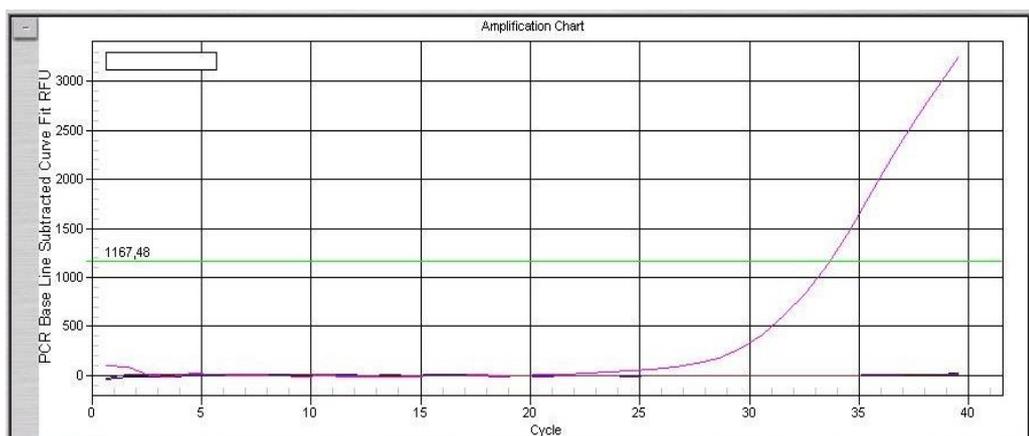


Рисунок 19. График накопления амплификата гена *fenD*, выявленного у штамма *B. altitudinis* API-2019 в режиме ПЦР в реальном времени

Графики доказывают присутствие в геноме *Bacillus altitudinis* API-2019 генов *ituD* и *fenD*, кодирующих биосинтез итурина А и фенгицина соответственно.

На рисунках 20 и 21 можно увидеть особенности нарастания числа амплификатов при использовании праймера гена *srfAA*, праймера гена *fenD* и праймера гена *sfp*.

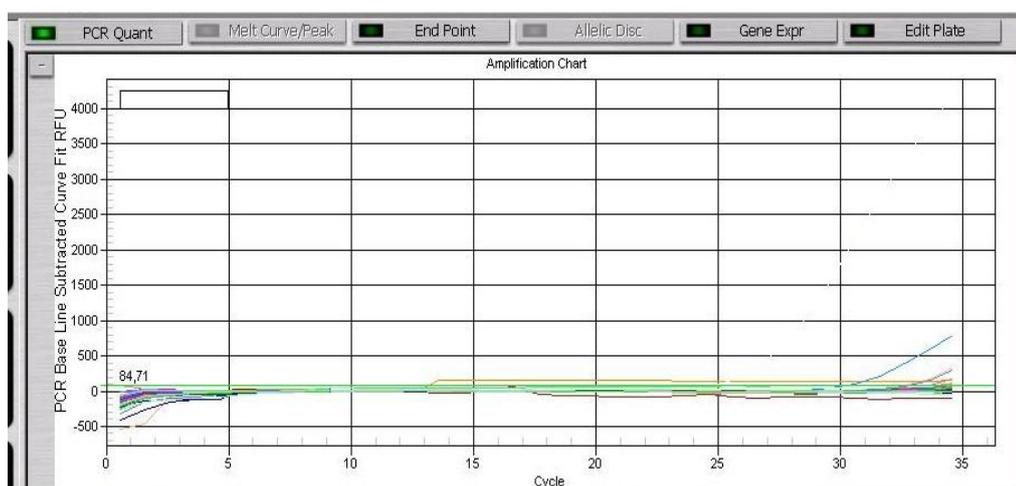


Рисунок 20. График накопления амплификата генов *srfAA* и *fenD*, выявленного у штаммов *B. cereus* DG-1, *B. cereus* DG-5, *B. cereus* DG-6, *B. cereus* DG-7, *B. subtilis* TA-3, *B. altitudinis* API-2019, *S. plymuthica* TV-4, консорциума штаммов VM-2 и *B. cereus* DG-1, *B. cereus* DG-5, *B. cereus* DG-6, *B. cereus* DG-7, *B. subtilis* TA-3, *B. subtilis* TA-8, *S. plymuthica* TV-4, консорциума штаммов VM-2 в режиме ПЦР в реальном времени

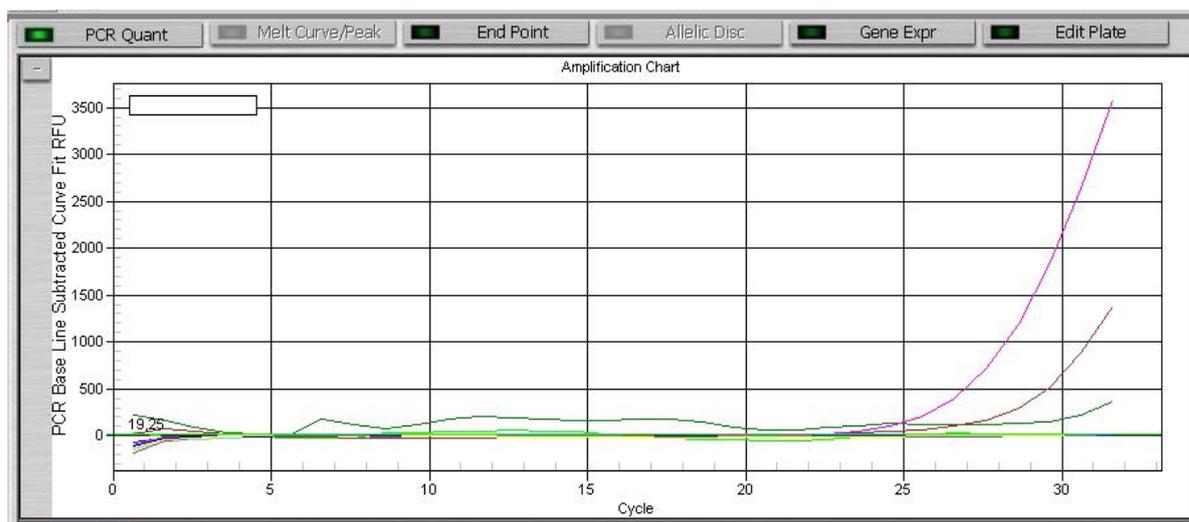


Рисунок 21. График накопления амплификата гена *sfp*, выявленного у штаммов *B. cereus* DG-1, *B. cereus* DG-7, *B. subtilis* TA-3, *B. subtilis* TA-8, *B. altitudinis* API-2019, *S. plymuthica* TV-4, консорциума штаммов VM-2

В геномах *B. cereus* DG-1, *B. cereus* DG-5, *B. cereus* DG-6, *B. cereus* DG-7, *B. subtilis* TA-3, *S. plymuthica* TV-4, консорциума штаммов VM-2 отсутствуют гены *srfAA*, *fenD* и *sfp*; у *B. subtilis* TA-8 – гены *fenD* и *sfp*; у *B. altitudinis* API-2019 нет генов *srfAA* и *sfp*.

Рисунок 22 указывает на увеличение количества продуктов амплификации при использовании праймера гена *ituC*, праймера гена *ituD*, праймера гена *lchAA* и праймера гена *fenB*.

Графики указывают на отсутствие в геномах *B. cereus* DG-1, *B. cereus* DG-5, *B. cereus* DG-6, *B. cereus* DG-7; *B. subtilis* TA-3, *B. subtilis* TA-8, *S. plymuthica* TV-4, консорциума штаммов VM-2 генов *ituC*, *ituD*, *lchAA* и *fenB*; у *B. altitudinis* API-2019 нет генов *ituC*, *lchAA* и *fenB*.

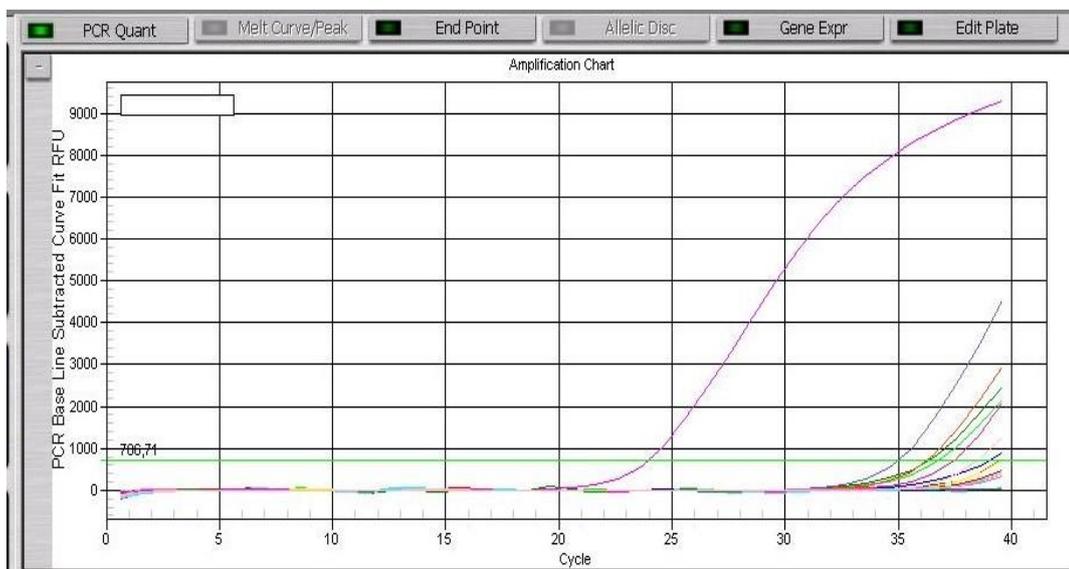


Рисунок 22. График накопления амплификата генов *ituC*, *ituD*, *lchAA* и *fenB*, выявленного у штаммов *B. cereus DG-1*, *B. cereus DG-5*, *B. cereus DG-6*, *B. cereus DG-7*, *B. subtilis TA-3*, *B. subtilis TA-8*, *B. altitudinis API-2019*, *S. plymuthica TV-4*, консорциума штаммов *VM-2*; *B. cereus DG-1*, *B. cereus DG-5*, *B. cereus DG-6*, *B. cereus DG-7*, *B. subtilis TA-3*, *B. Subtilis TA-8*, *S. plymuthica TV-4*, консорциума штаммов *VM-2*; *B. cereus DG-1*, *B. cereus DG-5*, *B. cereus DG-6*, *B. cereus DG-7*, *B. subtilis TA-3*, *B. subtilis TA-8*, *B. altitudinis API-2019*, *S. plymuthica TV-4*, консорциума штаммов *VM-2*; *B. cereus DG-1*, *B. cereus DG-5*, *B. cereus DG-6*, *B. cereus DG-7*, *B. subtilis TA-3*, *B. subtilis TA-8*, *B. altitudinis API-2019*, *S. plymuthica TV-4*, консорциума штаммов *VM-2* в режиме ПЦР в реальном времени

В результате сравнительных ПЦР-РВ исследований образцов штаммов, относящихся к родам *Bacillus* и *Serratia*, было выявлено, что представители рода *Bacillus* обладают генами, контролирующими синтез трех биосурфактантов, в частности, итурина, сурфактина и фенгицина.

У штамма *Bacillus cereus DG-5* и *Bacillus cereus DG-6* был обнаружен ген *sfp*, у *Bacillus subtilis TA-8* – ген *srfAA*, а у *Bacillus altitudinis API-2019* были обнаружены гены *ituD* и *fenD*.

Приведенные графики указывают на присутствие в геномах *Bacillus cereus DG-5* и *DG-6* гена *sfp*, регулирующего синтез сурфактина. Следует

отметить, что полученные результаты интересны тем, что несут в себе новизну, так как информация о способности *B. cereus* продуцировать сурфактин в доступных литературных источниках ранее не встречалась.

Полученные результаты суммированы в таблицах 10 и 11.

Таблица 10.

Гены, детектируемые у штаммов рода *Bacillus*.

	<i>Bacillus cereus</i> DG-1	<i>Bacillus cereus</i> DG-5	<i>Bacillus cereus</i> DG-6	<i>Bacillus cereus</i> DG-7	<i>Bacillus subtilis</i> TA-3	<i>Bacillus subtilis</i> TA-8	<i>Bacillus altitudinis</i> API-2019
<i>ituC</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>ituD</i>	-	-	-	-	-	-	+
<i>lchAA</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>sfp</i>	-	+	+	-	-	-	-
<i>srfAA</i>	-	-	-	-	-	+	-
<i>fenB</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>fenD</i>	-	-	-	-	-	-	+

Условные обозначения. Желтым цветом выделены положительные результаты.

Таблица 11.

Гены, поиск которых осуществлялся у *S. plymuthica* TV-4
и консорциума VM-2

	<i>Serratia plymuthica</i> TV-4	Консорциум штаммов VM-2
<i>ituC</i>	-	-
<i>ituD</i>	-	-
<i>lchAA</i>	-	-
<i>sfp</i>	-	-
<i>srfAA</i>	-	-

	<i>Serratia plymuthica</i> TV-4	Консорциум иштаммов VM-2
<i>fenB</i>	-	-
<i>fenD</i>	-	-

Таким образом, в результате исследования было установлено, что в геноме штамма *Bacillus altitudinis* API-2019 присутствуют гены, контролирующие синтез итурина *ituD* и фенгицина *fenD*.

Методом ПЦР в реальном времени был обнаружено, что штамм *Bacillus subtilis* обладает генами *srfAA*, которые контролируют синтез сурфактина.

У *Bacillus cereus* были выявлены гены *sfp*, детерминирующие синтез сурфактина.

Результаты, полученные в ходе данной работы, могут быть применены в исследованиях новых штаммов рода *Bacillus*, синтезирующих биосурфактанты.

ВЫВОДЫ

1. Методом ПЦР в реальном времени было выявлено, что в геномах *Bacillus cereus DG-5* и *Bacillus cereus DG-6* присутствует ген *sfp*, кодирующий синтез сурфактина. Полученные результаты обладают новизной, так как в более ранних исследованиях отсутствует информация о способности *Bacillus cereus* продуцировать сурфактин.

2. Методом ПЦР в реальном времени в геноме *Bacillus subtilis TA-8* обнаружен ген *sfAA*, кодирующий синтез сурфактина.

3. Методом ПЦР в реальном времени в геноме *Bacillus altitudinis API-2019* обнаружены гены *ituD* и *fenD*, кодирующие синтез итурина и фенгицина соответственно.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Liu JF, Mbadanga SM, Yang SZ, Gu JD, Mu BZ. Chemical structure, property and potential applications of biosurfactants produced by *Bacillus subtilis* in petroleum recovery and spill mitigation. *International Journal of Molecular Sciences*. 2015;16(3): 4814-4837.
2. Saharan BS, Sahu RK, Sharma D. A review on biosurfactants: Fermentation, current developments and perspectives. *Genetic Engineering and Biotechnology Journal*. 2011;1: 1-14.
3. Pradhan A, Bhattacharyya A. An alternative approach for determining critical micelle concentration: Dispersion of ink in foam. *Journal Surfactants Detergent*. 2018; 21(5):745-50.
4. Sobrinho HB, Luna JM, Rufino RD, Porto ALF, Sarubbo, LA. Biosurfactants: classification, properties and environmental applications. *Recent Developments in Biotechnology*. 2013;11: 1-29.
5. Banat I.M., Thavasi R. (Eds.) *Microbial Biosurfactants and Their Environmental and Industrial Applications*. Boca Raton, Fla., CRC Press, 2019. 372 p.
6. Phulpoto I.A., Yu Z., Hu B., Wang Y., Ndayisenga F., Li J., Liang H., Qazi M.A. Production and characterization of surfactin-like biosurfactant produced by novel strain *Bacillus nealsonii* S2MT and it's potential for oil contaminated soil remediation. *Microb. Cell Fact.*, 2020, vol. 19, art. 145, pp. 1–12. doi: 10.1186/s12934-020-01402-4.
7. Sen R. Biosurfactants. In: *Advances in Experimental Medicine and Biology*. Vol. 672. New York, Springer, 2010. xxviii, 331 p. doi: 10.1007/978-1-4419-5979-9.
8. Varjani S.J., Upasani V.N. Critical review on biosurfactant analysis, purification and characterization using rhamnolipid as a model biosurfactant. *Bioresour. Technol.*, 2017, vol. 232, pp. 389–397. doi: 10.1016/j.biortech.2017.02.047.

9. Shao B., Liu Z., Zhong H., Zeng G., Liu G., Yu M., Liu Y., Yang X., Li Z., Fang Z., Zhang J., Zhao Ch. Effects of rhamnolipids on microorganism characteristics and applications in composting: A review. *Microbiol. Res.*, 2017, vol. 200, pp. 33–44. doi: 10.1016/j.micres.2017.04.005.

10. Banat I.M. Biosurfactants production and possible uses in microbial enhanced oil recovery and oil pollution remediation: A review. *Bioresour. Technol.*, 1995, vol. 51, no. 1, pp. 1–12. doi: 10.1016/0960-8524(94)00101-6.

11. Poomtien J., Thaniyavarn J., Pinphanichakarn P., Jindamorakot S., Morikawa M. Production and characterization of a biosurfactant from *Cyberlindnera samutprakarnensis* JP52T. *Biosci., Biotechnol., Biochem.*, 2013, vol. 77, no. 12, pp. 2362–2370. doi: 10.1271/bbb.130434.

12. Benincasa M., Contiero J., Manresa M.A., Moraes I.A. Rhamnolipid production by *Pseudomonas aeruginosa* LBI growing on soapstock as the sole carbon source. *J. Food Eng.*, 2002, vol. 54, no. 4, pp. 283–288. doi: 10.1016/S0260-8774(01)00214-X.

13. Chen S.-Y., Wei Y.-H., Chang J.-S. Repeated pH-stat fed-batch fermentation for rhamnolipid production with indigenous *Pseudomonas aeruginosa* S2. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2007, vol. 76, no. 1, pp. 67–74. doi: 10.1007/s00253-007-0980-2.

14. Pacwa-Płociniczak M., Płaza G.A., Piotrowska-Seget Z., Cameotra S.S. Environmental applications of biosurfactants: Recent advances. *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 12, no. 1, pp. 633–654. doi: 10.3390/ijms12010633.

15. Hošková M., Schreiberová O., Ježdík R., Chudoba J., Masák J., Sigler K., Řezanka T. Characterization of rhamnolipids produced by non-pathogenic *Acinetobacter* and *Enterobacter* bacteria. *Bioresour. Technol.*, 2013, vol. 130, pp. 510–516. doi: 10.1016/j.biortech.2012.12.085.

16. Souza E.C., Vessoni-Penna T.C., de Souza Oliveira R.P. Biosurfactant-enhanced hydrocarbon bioremediation: An overview. *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, 2014, vol. 89, pp. 88–94. doi: 10.1016/j.ibiod.2014.01.007.

17. Varjani S., Upasani V. Carbon spectrum utilization by an indigenous strain of *Pseudomonas aeruginosa* NCIM 5514: Production, characterization and surface-active properties of biosurfactant. *Bioresour. Technol.*, 2016, vol. 221, pp. 510–516. doi: 10.1016/j.biortech.2016.09.080.

18. Elshikh M., Moya-Ramírez I., Moens H., Roelants S., Soetaert W., Marchant R., Banat I.M. Rhamnolipids and lactonic sophorolipids: Natural antimicrobial surfactants for oral hygiene. *J. Appl. Microbiol.*, 2017, vol. 123, no. 5, pp. 1111–1123. doi: 10.1111/jam.13550.

19. De S, Malik S, Ghosh A, Saha R, Saha B. A review on natural surfactants. *RSC Advances*. 2015;5(81):65757-65767.

20. Md F. Biosurfactant: production and application. *Journal of Petroleum and Environmental Biotechnology*. 2012;3(4): 1-5.

21. Gudiña E.J., Rangarajan V., Sen R., Rodrigues L.R. Potential therapeutic applications of biosurfactants. *Trends Pharmacol. Sci.*, 2013, vol. 34, no. 12, pp. 667–675. doi: 10.1016/j.tips.2013.10.002.

22. Naughton P.J., Marchant R., Naughton V., Banat I.M. Microbial biosurfactants: Current trends and applications in agricultural and biomedical industries. *J. Appl. Microbiol.*, 2019, vol. 127, no. 1, pp. 12–28. doi: 10.1111/jam.14243.

23. Stancu MM. Response of *Rhodococcus erythropolis* strain IBBPo1 to toxic organic solvents. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2015;46(4):1009-1018.

24. Pacwa-Płociniczak M, Płaza GA, Piotrowska-Seget Z, Cameotra SS. Environmental applications of biosurfactants: recent advances. *International Journal of Molecular Sciences*. 2011;12(1): 633-654.

25. Muthusamy K, Gopalakrishnan S, Ravi TK, Sivachidambaram P. Biosurfactants: properties, commercial production and application. *Current Science*. 2008;94(6): 736-747.

26. Ongena M., Henry G., Thonart P. // *Recent Developments in Management of Plant Diseases (Plant Pathology in the 21st Century)*. V. 1. Eds.

Gisi U., Dordrecht, Heidelberg, London, New York: Springer Science Business Media B.V., 2010. P. 59–69.

27. Fira D., Dimkić I., Berić T., Lozo J., Stanković S. // *J. Biotechnology*. 2018. V. 285. № 1. P. 44–55.

28. Сидорова Т.М., Астаурова А.М., Хомяк А.И. // *Сельскохозяйственная микробиология*. 2018. Т. 53. № 1. С. 29–37.

29. e Silva NMPR, Rufino RD, Luna JM, Santos VA, Sarubbo LA. Screening of *Pseudomonas* species for biosurfactant production using low-cost substrates. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2014;3(2):132-139.

30. Празднова Е. В., Андриянов А. И., Васильченко Н. Г., Нерибосомально синтезируемые метаболиты и генетические механизмы их синтеза в реализации фунгицидного эффекта бактерий р.*Bacillus* и *Raenibacillus* (обзор) // «Живые и биокосные системы». – 2018. – № 25; URL: <http://www.jbks.ru/archive/issue225/article26>.

31. Thimon L. et al. Effect of the lipopeptide antibiotic, iturin A, on morphology and membrane ultrastructure of yeast cells // *FEMS Microbiology Letters*. – 1995. – Т. 128. – №. 2. – С. 101-106.

32. Tsuge K., Akiyama T., Shoda M. Cloning, sequencing, and characterization of the iturin A operon // *Journal of bacteriology*. – 2001. – Т. 183. – №. 21. – С. 6265-6273.

33. Празднова Е.В. Антимутагенное действие пробиотиков как основа их биологического эффекта: дис. на соиск. учен. степ. д-ра биол. наук: 03.01.03 – ФГАОУ ВО «ЮФУ», Ростов-на-Дону, 2020 – 266с.

34. Максимов И.В., Сингх Б.П., Черепанова Е.А., Бурханова Г.Ф., Хайруллин, Р. М. Перспективы применения бактерий – продуцентов липопептидов для защиты растений (обзор) // *Прикладная биохимия и микробиология*. – 2020. – Т. 56. – №.1. – С. 19-34.

35. [Дубилей С.А. Пептид-нуклеотидные антибиотики семейства микроцинов С: разнообразие и общие механизмы действия, биосинтеза и

иммунности: дис. на соиск. учен. степ. д-ра биол. наук: 03.01.03 – ИБГ РАН, Москва, 2020 – 250с.]

36. Lambalot RH, Walsh CT. 1995. Cloning, overproduction, and characterization of the Escherichia coli holo-acyl carrier protein synthase. *J Biol Chem* 270:24658–24661.

37. Koglin A, Mofid MR, Löhr F, Schäfer B, Rogov V V, Blum M-M, Mittag T, Marahiel MA, Bernhard F, Dötsch V. 2006. Conformational switches modulate protein interactions in peptide antibiotic synthetases. *Science* 312:273–276.

38. Conti E, Stachelhaus T, Marahiel MA, Brick P. 1997. Structural basis for the activation of phenylalanine in the non-ribosomal biosynthesis of gramicidin S. *EMBO J* 16:4174–4183.

39. Reimer JM, Aloise MN, Harrison PM, Schmeing TM. 2016. Synthetic cycle of the initiation module of a formylating nonribosomal peptide synthetase. *Nature* 529:239–242.

40. Drake EJ, Miller BR, Shi C, Tarrasch JT, Sundlov JA, Allen CL, Skiniotis G, Aldrich CC, Gulick AM. 2016. Structures of two distinct conformations of holo-non-ribosomal peptide synthetases. *Nature* 529:235–238.

41. Bloudoff K, Rodionov D, Schmeing TM. 2013. Crystal structures of the first condensation domain of CDA synthetase suggest conformational changes during the synthetic cycle of nonribosomal peptide synthetases. *J Mol Biol* 425:3137–150.

42. Bloudoff K, Alonzo DA, Schmeing TM. 2016. Chemical Probes Allow Structural Insight into the Condensation Reaction of Nonribosomal Peptide Synthetases. *Cell Chem Biol* 23:331–339.

43. Shaw-Reid CA, Kelleher NL, Losey HC, Gehring AM, Berg C, Walsh CT. 1999. Assembly line enzymology by multimodular nonribosomal peptide synthetases: the thioesterase domain of E. coli EntF catalyzes both elongation and cyclolactonization. *Chem Biol* 6:385–400.

44. Guidechem Chemical Network – China Chemical Trading Guide: [Электронный ресурс]. URL: <https://www.guidechem.com/>. (Дата обращения: 12.05.2022).

45. Tsuge K, Akiyama T, Shoda M. Cloning, sequencing, and characterization of the iturin A operon. *J Bacteriol.* 2001; 183:6265–73.

46. Ongena M, Jacques P. *Bacillus* lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. *Trends Microbiol.* 2008; 16:115–25.

47. Stein T. *Bacillus subtilis* antibiotics: structures, syntheses and specific functions. *Mol Microbiol.* 2005; 56:845–57.

48. Bernat P, Paraszkievicz K, Siewiera P, Moryl M, Płaza G, Chojniak J. Lipid composition in a strain of *Bacillus subtilis*, a producer of iturin A lipopeptides that are active against uropathogenic bacteria. *World J Microbiol Biotechnol.* 2016; 32:157.

49. Kalai-Grami L, Karkouch I, Naili O, Slimene IB, Elkahoui S, Zekri RB, et al. Production and identification of iturin A lipopeptide from *Bacillus methyltrophicus* TEB1 for control of *Phoma tracheiphila*. *J Basic Microbiol.* 2016; 56:864–71.

50. Kim PI, Ryu J, Kim YH, Chi YT. Production of biosurfactant lipopeptides Iturin A, fengycin and surfactin A from *Bacillus subtilis* CMB32 for control of *Colletotrichum gloeosporioides*. *J Microbiol Biotechnol.* 2010; 20:138–45.

51. Perez KJ, Viana JD, Lopes FC, Pereira JQ, Santos DM, Oliveira JS, et al. *Bacillus* spp. isolated from puba as a source of biosurfactants and antimicrobial lipopeptides. *Front Microbiol.* 2017; 8:61.

52. Tsuge K, Inoue S, Ano T, Itaya M, Shoda M. Horizontal transfer of iturin A operon, *itu*, to *Bacillus subtilis* 168 and conversion into an iturin A producer. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005; 49:4641–8.

53. Velmurugan N, Choi MS, Han SS, Lee YS. Evaluation of antagonistic activities of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* against wood-staining fungi: in vitro and in vivo experiments. *J Microbiol.* 2009; 47:385–92.

54. Zhang QX, Zhang Y, Shan HH, Tong YH, Chen XJ, Liu FQ. Isolation and identification of antifungal peptides from *Bacillus amyloliquefaciens* W10. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2017; 24:25000–9.

55. Zhao X, Zhou ZJ, Han Y, Wang ZZ, Fan J, Xiao HZ. Isolation and identification of antifungal peptides from *Bacillus* BH072, a novel bacterium isolated from honey. *Microbiol Res.* 2013; 168:598–606.

56. Рудакова М.А., Галицкая П.Ю., Селивановская С.Ю. Биосурфактанты: современные тренды применения // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. – 2021. – Т. 163, кн. 2. – С. 177–208. – doi: 10.26907/2542-064X.2021.2.177-208.

57. De Almeida D.G., Soares Da Silva R.C.F., Luna J.M., Rufino R.D., Santos V.A., Banat I.M., Sarubbo L.A. Biosurfactants: Promising molecules for petroleum biotechnology advances. *Front. Microbiol.*, 2016, vol. 7, art. 1718, pp. 1–14. doi: 10.3389/fmicb.2016.01718.

58. Silva R.C.F.S., Almeida D.G., Rufino R.D., Luna J.M., Santos V.A., Sarubbo L. Applications of biosurfactants in the petroleum industry and the remediation of oil spills. *Int. J. Mol. Sci.*, 2014, vol. 15, no. 7, pp. 12523–12542. doi: 10.3390/ijms150712523.

59. Silva V.L., Lovaglio R.B., Von Zuben C.J., Contiero J. Rhamnolipids: Solution against *Aedes aegypti*? *Front. Microbiol.*, 2015, vol. 6, art. 88, pp. 1–5. doi: 10.3389/fmicb.2015.00088.

60. Lazar I., Petrisor I.G., Yen T.F. Microbial enhanced oil recovery (MEOR). *Pet. Sci. Technol.*, 2007, vol. 25, no. 11, pp. 1353–1366. doi: 10.1080/10916460701287714.

61. Brown L.R. Microbial enhanced oil recovery (MEOR). *Curr. Opin. Microbiol.*, 2010, vol. 13, no. 3, pp. 316–320. doi: 10.1016/j.mib.2010.01.011.

62. Nikolova C., Gutierrez T. Use of microorganisms in the recovery of oil from recalcitrant oil reservoirs: Current state of knowledge, technological advances and future perspectives. *Front. Microbiol.*, 2020, vol. 10, art. 2996, pp. 1–18. doi: 10.3389/fmicb.2019.02996.

63. Morikawa M., Hirata Y., Imanaka T. A study on the structure-function relationship of lipopeptide biosurfactants. *Biochim. Biophys. Acta, Mol. Cell Biol. Lipids*, 2000, vol. 1488, no. 3, pp. 211–218. doi: 10.1016/S1388-1981(00)00124-4.

64. Adelzadeh M.R., Roostaazad R., Kamali M.R., Bagheri Lotfabad T. A technical feasibility analysis to apply *Pseudomonas aeruginosa* MR01 biosurfactant in microbial enhanced oil recovery of lowpermeability carbonate reservoirs of Iran. *Sci. Iran.*, 2010, vol. 17, no. 1, pp. 46–54.

65. Gudiña E.J., Rodrigues A.I., de Freitas V., Azevedo Z., Teixeira J.A., Rodrigues L.R. Valorization of agro-industrial wastes towards the production of rhamnolipids. *Bioresour. Technol.*, 2016, vol. 212, pp. 144–150. doi: 10.1016/j.biortech.2016.04.027.

66. Pereira J.F.B., Gudiña E.J., Costa R., Vitorino R., Teixeira J.A., Coutinho J.A.P., Rodrigues L.R. Optimization and characterization of biosurfactant production by *Bacillus subtilis* isolates towards microbial enhanced oil recovery applications. *Fuel*, 2013, vol. 111, pp. 259–268. doi: 10.1016/j.fuel.2013.04.040.

67. Rabiei A., Sharifinik M., Niazi A., Hashemi A., Ayatollahi S. Core flooding tests to investigate the effects of IFT reduction and wettability alteration on oil recovery during MEOR process in an Iranian oil reservoir. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2013, vol. 97, no. 13, pp. 5979–5991. doi: 10.1007/s00253-013-4863-4.

68. Nitschke M., Silva S.S.E. Recent food applications of microbial surfactants. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2018, vol. 58, no. 4, pp. 631–638. doi: 10.1080/10408398.2016.1208635.

69. Xia W.-J., Dong H.-P., Yu L., Yu D.-F. Comparative study of biosurfactant produced by microorganisms isolated from formation water of petroleum reservoir. *Colloids Surf., A.*, 2011, vol. 392, no. 1, pp. 124–130. doi: 10.1016/j.colsurfa.2011.09.044.

70. Zhao F., Zhou J.-D., Ma F., Shi R.-J., Han S.-Q., Zhang J., Zhang Y. Simultaneous inhibition of sulfate-reducing bacteria, removal of H₂S and production of rhamnolipid by recombinant *Pseudomonas stutzeri* Rhl: Applications for microbial enhanced oil recovery. *Bioresour. Technol.*, 2016, vol. 207, pp. 24–30. doi: 10.1016/j.biortech.2016.01.126.

71. Sachdev D.P., Cameotra S.S. Biosurfactants in agriculture. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2013, vol. 97, no. 3, pp. 1005–1016. doi: 10.1007/s00253-012-4641-8.

72. Suryanti V., Hastuti S., Wahyuningsih T.D., Mudasir M., Kresnadipayana D., Wiratna I. Heavy metal removal from aqueous solution using biosurfactants produced by *Pseudomonas aeruginosa* with corn oil as substrate. *Indones. J. Chem.*, 2018, vol. 18, no. 3, pp. 472–478. doi: 10.22146/ijc.28805.

73. Maslin P., Maier R.M. Rhamnolipid-enhanced mineralization of phenanthrene in organic-metal cocontaminated soils. *Biorem. J.*, 2000, vol. 4, no. 4, pp. 295–308. doi: 10.1080/10889860091114266.

74. Fenibo E.O., Ijoma G.N., Selvarajan R., Chikere C.B. Microbial surfactants: The next generation multifunctional biomolecules for applications in the petroleum industry and its associated environmental remediation. *Microorganisms*, 2019, vol. 7, no. 11, art. 581, pp. 1–29. doi: 10.3390/microorganisms7110581.

75. Liu G., Zhong H., Yang X., Liu Y., Shao B., Liu Z. Advances in applications of rhamnolipids biosurfactant in environmental remediation: A review. *Biotechnol. Bioeng.*, 2018, vol. 115, no. 4, pp. 796–814. doi: 10.1002/bit.26517.

76. Robineau M., Guenic S.L., Sanchez L., Chaveriat L., Lequart V., Joly N., Calonne M., Jacquard C., Declerck S., Martin P., Dorey S., Barka E.A. Synthetic mono-rhamnolipids display direct antifungal effects and trigger an innate immune response in tomato against *Botrytis cinerea*. *Molecules*, 2020, vol. 25, no. 14, art. 3108, pp. 1–18. doi: 10.3390/molecules25143108.

77. Luzuriaga-Loaiza W.P., Schellenberger R., De Gaetano Y., Akong F.O., Villaume S., Crouzet J., Haudrechy A., Baillieul F., Clément C., Lins L., Allais F., Ongena M., Bouquillon S., Deleu M., Dorey S. Synthetic rhamnolipid bolaforms trigger an innate immune response in *Arabidopsis thaliana*. *Sci. Rep.*, 2018, vol. 8, art. 8534, pp. 1–13. doi: 10.1038/s41598-018-26838-y.

78. Monnier N., Furlan A., Botcazon C., Dahi A., Mongelard G., Cordelier S., Clément C., Dorey S., Sarazin C., Rippa S. Rhamnolipids from *Pseudomonas aeruginosa* are elicitors triggering *Brassica napus* protection against *Botrytis cinerea* without physiological disorders. *Front. Plant Sci.*, 2018, vol. 9, art. 1170, pp. 1–14. doi: 10.3389/fpls.2018.01170.

79. Rani M., Weadge J.T., Jabaji S. Isolation and characterization of biosurfactant-producing bacteria from oil well batteries with antimicrobial activities against food-borne and plant pathogens. *Front. Microbiol.*, 2020, vol. 11, art. 64, pp. 1–17. doi: 10.3389/fmicb.2020.00064.

80. Elshikh M., Moya-Ramírez I., Moens H., Roelants S., Soetaert W., Marchant R., Banat I.M. Rhamnolipids and lactonic sophorolipids: Natural antimicrobial surfactants for oral hygiene. *J. Appl. Microbiol.*, 2017, vol. 123, no. 5, pp. 1111–1123. doi: 10.1111/jam.13550.

81. Sathiyarayanan G., Kiran S.G., Selvin J. Synthesis of silver nanoparticles by polysaccharide bioflocculant produced from marine *Bacillus subtilis* MSBN17. *Colloids Surf., B*, 2013, vol. 102, pp. 13–20. doi: 10.1016/j.colsurfb.2012.07.032.

82. Kiran G.S., J. Selvin J., A. Manilal A., Sujith S. Biosurfactants as green stabilizers for the biological synthesis of nanoparticles. *Crit. Rev. Biotechnol.*, 2011, vol. 31, no. 4, pp. 354–364. doi: 10.3109/07388551.2010.539971.

83. Ohadi M., Shahravan A., Dehghannoudeh N., Eslaminejad T., Banat I. M., Dehghannoudeh G. Potential use of microbial surfactant in microemulsion drug delivery system: A systematic review. *Drug Des., Dev. Ther.*, 2020, vol. 14, pp. 541–550. doi: 10.2147/DDDT.S232325.

84. Tayeb H.H., Sainsbury F. Nanoemulsions in drug delivery: Formulation to medical application. *Nanomedicine*, 2018, vol. 13, no. 19, pp. 2507–2525. doi: 10.2217/nnm-2018-0088.

85. Gundewadi G., Sarkar D.J., Rudra S.G., Singh D. Preparation of basil oil nanoemulsion using *Sapindus mukorossi* pericarp extract: Physico-chemical properties and antifungal activity against food spoilage pathogens. *Ind. Crops Prod.*, 2018, vol. 125, pp. 95–104. doi: 10.1016/j.indcrop.2018.08.076.

86. Nakanishi M., Inoh Y., Kitamoto D., Furuno T. Nano vectors with a biosurfactant for gene transfection and drug delivery. *J. Drug Delivery Sci. Technol.*, 2009, vol. 19, no. 3, pp. 165–169. doi: 10.1016/S1773-2247(09)50031-7.

87. Rodrigues L.R. Microbial surfactants: Fundamentals and applicability in the formulation of nano-sized drug delivery vectors. *J. Colloid Interface Sci.*, 2015, vol. 449, pp. 304–316. doi: 10.1016/j.jcis.2015.01.022.

88. Tanawade O., Shangrapawar T., Bhosale A. Self-emulsifying drug delivery systems: An Overview. *Curr. Pharm. Res.*, 2020, vol. 10, no. 2, pp. 3680–3693.

89. Subramaniam M.D., Venkatesan D., Iyer M., Subbarayan S., Govindasami V., Roy A., Narayanasamy A., Kamalakannan S., Gopalakrishnan A.V., Thangarasu R., Kumar N.S., Vellingiri B. Biosurfactants and anti-inflammatory activity: A potential new approach towards COVID-19. *Curr. Opin. Environ. Sci. Health*, 2020, vol. 17, pp. 72–81. doi: 10.1016/j.coesh.2020.09.002.

90. Smith M.L., Gandolfi S., Coshall P.M., Rahman P.K.S.M. Biosurfactants: A Covid-19 perspective. *Front. Microbiol.*, 2020, vol. 11, art. 1341, pp. 1–8. doi: 10.3389/fmicb.2020.01341.

91. Weiskirchen R. Severity of coronavirus disease 2019 (COVID-19): Does surfactant matter? *Front. Microbiol.*, 2020. vol. 11, art. 1905, pp. 1–5. doi: 10.3389/fmicb.2020.01905.

92. Das U.N. Can bioactive lipids inactivate coronavirus (COVID-19)? *Arch. Med. Res.*, 2020, vol. 51, no. 3, pp. 282–286. doi: 10.1016/j.arcmed.2020.03.004.
93. Garoff H., Hewson R., Opstelten D.-J.E. Virus maturation by budding. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 1998, vol. 62, no. 4, pp. 1171–1190. doi: 10.1128/MMBR.62.4.1171-1190.1998.
94. Tabassum K.N. Cyclosporin A production from *Tolipocladium inflatum*. *Gen. Med.: Open Access*, 2017, vol. 5, no. 4, art. 1000294, pp. 1–3. doi: 10.4172/2327-5146.1000294.
95. Wang Y., Nie M., Diwu Z., Lei Y., Li H., Bai X. Characterization of trehalose lipids produced by a unique environmental isolate bacterium *Rhodococcus qingshengii* strain FF. *J. Appl. Microbiol.*, 2019, vol. 127, no. 5, pp. 1442–1453. doi: 10.1111/jam.14390.
96. Ma C., Li F., Musharrafieh R.G., Wang J. Discovery of cyclosporine A and its analogs as broadspectrum anti-influenza drugs with a high in vitro genetic barrier of drug resistance. *Antiviral Res.*, 2016, vol. 133, pp. 62–72. doi: 10.1016/j.antiviral.2016.07.019.
97. Deres K., Schild H., Wiesmüller K.H., Jung G., Rammensee H.G. In vivo priming of virus-specific cytotoxic T lymphocytes with synthetic lipopeptide vaccine. *Nature*, 1989, vol. 342, no. 6249, pp. 561–564. doi: 10.1038/342561a0.
98. Wiesmüller K.-H., Jung G., Hess G. Novel low-molecular-weight synthetic vaccine against foot-and-mouth disease containing a potent B-cell and macrophage activator. *Vaccine*, 1989, vol. 7, no. 1, pp. 29–33. doi: 10.1016/0264-410X(89)90007-8.
99. Loleit M., Ihlenfeldt H.G., Brünjes J., Jung G., Müller B., Hoffmann P., Bessler W.G., Pierres M., Haas G. Synthetic peptides coupled to the lipotriptide P3CSS induce in vivo B and Thelper cell responses to HIV-1 reverse transcriptase. *Immunobiology*, 1996, vol. 195, no. 1, pp. 61–76. doi: 10.1016/S0171-2985(96)80006-4.

100. Borsanyiova M., Patil A., Mukherji R., Prabhune A., Bopegamage S. Biological activity of sophorolipids and their possible use as antiviral agents. *Folia Microbiol.*, 2016, vol. 61, no. 1, pp. 85–89. doi: 10.1007/s12223-015-0413-z.

101. Shah V., Doncel G.F., Seyoum T., Eaton K.M., Zalenskaya I., Hagver R., Azim A., Gross R. Sophorolipids, microbial glycolipids with anti-human immunodeficiency virus and sperm-immobilizing activities. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2005, vol. 49, no. 10, pp. 4093–4100. doi: 10.1128/AAC.49.10.4093-4100.2005.

102. Hardin R., Pierre J., Schulze R., Mueller C.M., Fu S.L., Wallner S.R., Stanek A., Shah V., Gross R.A., Weedon J., Nowakowski M., Zenilman M.E., Bluth M.H. Sophorolipids improve sepsis survival: Effects of dosing and derivatives. *J. Surg. Res.*, 2007, vol. 142, no. 2, pp. 314–319. doi: 10.1016/j.jss.2007.04.025.

103. Ribeiro B.G., Guerra J.M.C., Sarubbo L.A. Potential food application of a biosurfactant produced by *Saccharomyces cerevisiae* URM 6670. *Front. Bioeng. Biotechnol.*, 2020, vol. 8, art. 434, pp. 1–13. doi: 10.3389/fbioe.2020.00434.

104. Campos J.M., Montenegro Stamford T.L., Sarubbo L.A., de Luna J.M., Rufino R.D., Banat I.M. Microbial biosurfactants as additives for food industries. *Biotechnol. Prog.*, 2013, vol. 29, no. 5, pp. 1097–1108. doi: 10.1002/btpr.1796.

105. Nitschke M., Costa S.G.V.A.O. Biosurfactants in food industry. *Trends Food Sci. Technol.*, 2007, vol. 18, no. 5, pp. 252–259. doi: 10.1016/j.tifs.2007.01.002.

106. Irfan-Maqsood M., Seddiq-Shams M. Rhamnolipids: Well-characterized glycolipids with potential broad applicability as biosurfactants. *Ind. Biotechnol.*, 2014, vol. 10, no. 4, pp. 285–291. doi: 10.1089/ind.2014.0003.

107. Takahashi M., Morita T., Fukuoka T., Imura T., Kitamoto D. Glycolipid biosurfactants, mannosylerythritol lipids, show antioxidant and

protective effects against H₂O₂ -induced oxidative stress in cultured human skin fibroblasts. *J. Oleo Sci.*, 2012, vol. 61, no. 8, pp. 457–464. doi: 10.5650/jos.61.457.

108. Jemil N., Ayed H.B., Manresa A., Nasri M., Hmidet N. Antioxidant properties, antimicrobial and anti-adhesive activities of DCS1 lipopeptides from *Bacillus methylotrophicus* DCS1. *BMC Microbiol.*, 2017, vol. 17, no. 1, art. 144, pp. 1–11. – doi: 10.1186/s12866-017-1050-2.

109. Zeraik A.E., Nitschke M. Biosurfactants as agents to reduce adhesion of pathogenic bacteria to polystyrene surfaces: Effect of temperature and hydrophobicity. *Curr. Microbiol.*, 2010, vol. 61, no. 6, pp. 554–559. doi: 10.1007/s00284-010-9652-z.

110. Luna J.M., Rufino R.D., Sarubbo L.A., Rodrigues L.R.M., Teixeira J.A.C., de Campos-Takaki G.M. Evaluation antimicrobial and antiadhesive properties of the biosurfactant lunasan produced by *Candida sphaerica* UCP 0995. *Curr. Microbiol.*, 2011, vol. 62, no. 5, pp. 1527–1534. doi: 10.1007/s00284-011-9889-1.

111. Rufino R.D., Luna J.M., Sarubbo L.A., Rodrigues L.R.M., Teixeira J.A.C., Campos-Takaki G.M. Antimicrobial and anti-adhesive potential of a biosurfactant Rufisan produced by *Candida lipolytica* UCP 0988. *Colloids Surf., B*, 2011, vol. 84, no. 1, pp. 1–5. doi: 10.1016/j.colsurfb.2010.10.045.

112. Sen R. Biosurfactants. In: *Advances in Experimental Medicine and Biology*. Vol. 672. New York, Springer, 2010. xxviii, 331 p. doi: 10.1007/978-1-4419-5979-9.

113. Ahuja K., Singh S. Biosurfactants Market Trends 2020–2026. Growth Projections. Rep. GMI484, 2020. 564 p. Available at: <https://www.gminsights.com/industry-analysis/biosurfactants-marketreport>.

114. Jimoh A.A., Lin J. Biosurfactant: A new frontier for greener technology and environmental sustainability. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 2019, vol. 184, art. 109607, pp. 1–19. doi: 10.1016/j.ecoenv.2019.109607.

115. Walter V., Syldatk C., Hausmann R. Screening concepts for the isolation of biosurfactant producing microorganisms. In: Madame Curie Bioscience Database. Landes Biosci., 2010–2013. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK6189/>.

116. Mulligan C.N., Cooper D.G., Neufeld R.J. Selection of microbes producing biosurfactants in media without hydrocarbons. *J. Ferment. Technol.*, 1984, vol. 62, no. 4, pp. 311–314.

117. Chen C.-Y., Baker S.C., Darton R.C. The application of a high throughput analysis method for the screening of potential biosurfactants from natural sources. *J. Microbiol. Methods*, 2007, vol. 70, no. 3, pp. 503–510. doi: 10.1016/j.mimet.2007.06.006.

118. Vaux D.J., Cottingham M. Method and apparatus for measuring surface configuration. US Patent no. US 7224470 B2. May 29, 2007, pp. 1–13.

119. Aparna A., Srinikethan G., Smitha H. Production and characterization of biosurfactant produced by a novel *Pseudomonas* sp. 2B. *Colloids Surf., B*, 2012, vol. 95, pp. 23–29. doi: 10.1016/j.colsurfb.2012.01.043.

120. Rosenberg M., Gutnick D., Rosenberg E. Adherence of bacteria to hydrocarbons: A simple method for measuring cell-surface hydrophobicity. *FEMS Microbiol. Lett.*, 1980, vol. 9, no. 1, pp. 29–33.

121. Rosenberg M. Bacterial adherence to polystyrene: A replica method of screening for bacterial hydrophobicity. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1981, vol. 42, no. 2, pp. 375–377. doi: 10.1128/aem.42.2.375-377.1981.

122. Singh N., Pemmaraju S.C., Pruthi P.A., Cameotra S.S., Pruthi V. Candida biofilm disrupting ability of di-rhamnolipid (RL-2) produced from *Pseudomonas aeruginosa* DSVP20. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 2013, vol. 169, no. 8, pp. 2374–2391. doi: 10.1007/s12010-013-0149-7.

123. Pruthi V., Cameotra S.S. Rapid identification of biosurfactant-producing bacterial strains using a cell surface hydrophobicity technique. *Biotechnol. Tech.*, 1997, vol. 11, no. 9, pp. 671–674. doi: 10.1023/A:1018411427192.

124. Ron E.Z., Rosenberg E. Natural roles of biosurfactants. Minireview. *Environ. Microbiol.*, 2001, vol. 3, no. 4, pp. 229–236. doi: 10.1046/j.1462-2920.2001.00190. x.

125. Rosenberg M. Microbial adhesion to hydrocarbons: Twenty-five years of doing MATH. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2006, vol. 262, no. 2. pp. 129–134. doi: 10.1111/j.1574-6968.2006.00291. x.

126. Rosenberg M., Barki M., Bar-Ness R., Goldberg S., Doyle R.J. Microbial adhesion to hydrocarbons (math). *Biofouling*, 1991, vol. 4, nos. 1–3, pp. 121–128. doi: 10.1080/08927019109378202.

127. Bodour A.A., Miller-Maier R.M. Application of a modified drop-collapse technique for surfactant quantitation and screening of biosurfactant-producing microorganisms. *J. Microbiol. Methods*, 1998, vol. 32, no. 3, pp. 273–280. doi: 10.1016/S0167-7012(98)00031-1.

128. ABIS Encyclopedia: [Электронный ресурс]. URL: <https://www.tgw1916.net/Bacillus/altitudinis.html> (Дата обращения: 18.05.2022).

129. Красникова Л.В., Гунькова П.И. Общая и пищевая микробиология: учеб. пособие. Часть I. – СПб.: Университет ИТМО, 2016. 135 с.

130. Paul, Sulav Indra; Rahman, Md. Mahbubur; Salam, Mohammad Abdus; Khan, Md. Arifur Rahman; Islam, Md. Tofazzal (2021-12-15). "Identification of marine sponge-associated bacteria of the Saint Martin's Island of the Bay of Bengal emphasizing on the prevention of motile *Aeromonas septicemia* in *Labeo rohita*». *Aquaculture*. 545: 737156. doi: 10.1016/j.aquaculture.2021.737156. ISSN 0044-8486.

131. Васильев Д.А., Щербаков А.А., Карпунина Л.В., Золотухин С.Н. Методы частной бактериологии: учеб. – метод. пособие. Ульяновск: НИИЦМиБ УлГСХА им. П.А. Столыпина, 2004. – 222 с.

132. Васильев Д.А., Калдыркаев А.И., Феоктистова Н.А., Алёшкин А.В. Идентификация бактерий *Bacillus cereus* на основе их фенотипической

характеристики. Научное издание. – Ульяновск: НИИЦМиБ УлГСХА им. П.А. Столыпина, 2013. – 98 с.: Ил. 49. ISBN: 978-5-905970-10-8.

133. Штамм бактерий *Serratia plymuthica*, обладающий противовирусной активностью в отношении вирусов гриппа типа А (его варианты): пат. 2551316 Рос. Федерация. № 2013159202/10; заявл. 30.12.2013; опубл. 20.05.2015, Бюл. № 14.

134. VITEK[®] MS bioMerieux Россия: [Электронный ресурс]. URL: <https://www.biomerieux-russia.com/>. (Дата обращения: 17.05.2022).

135. Gene cloning and DNA analysis: an introduction / Т.А. Brown. — Wiley-Blackwell, 6th ed, 2010.

136. Principles and techniques of biochemistry and molecular biology / edited by Keith Wilson and John Walker. – 7th ed.

РЕЦЕНЗИЯ

на выпускную квалификационную работу студента группы Б-401 А группы
(Форма выпускной квалификационной работы) (Шифр группы)

Гумеровой Адель Рафаэлевны
(Фамилия, имя, отчество полностью)

на тему: «Сравнительное исследование бактериальных генов сурфактина, фенгицина и итирина»

1 Объем текстовой части (пояснительной записки) и иллюстрационно-графического материала, соответствие наименования и содержания разделов работы заданию, выданному кафедрой. Полностью соответствует.

2 Актуальность тематики проблемы, решаемой в выпускной квалификационной работе, и качество ее решения. Тема выпускной квалификационной работы очень актуальна.

3 Основные достоинства и недостатки выпускной квалификационной работы. Выпускная квалификационная работа выполнена в соответствии с требованиями, проведен большой анализ литературных источников по заявленной тематике.

4 Техничко-экономические, социально-экономические, экологические обоснования, обоснования вопросов безопасности жизнедеятельности, разработанные в выпускной квалификационной работе. Имеет социально-экономическое значение в микробиологической науке.

5 Уровень использования вычислительной техники и программных средств. Освоены методы планирования и анализа.

6 Апробация и реализация результатов, полученных в выпускной квалификационной работе: патенты, внедрения, публикации, сообщения на конференциях и др.

7 Практическая и теоретическая подготовленность выпускника к выполнению профессиональных задач. Хороший уровень подготовки.

8 Качество оформления текстовой части (пояснительной записки) и иллюстрационно-графического материала в соответствии с требованиями действующих стандартов и регламентов. Работа оформлена в соответствии с требованиями.

9 Обоснованность выводов и предложений. Автором тема глубоко изучена и проработана, заслуживают внимания результаты и обсуждение.

10 Замечания по усмотрению рецензента. Замечаний нет (дополнительные замечания представлены на листах приложения).

11 Возможность использования результатов, полученных в выпускной квалификационной работе, для публикации, реализации в учебном процессе, рекомендуемых к внедрению или др. Результаты могут быть использованы в дальнейшем в учебном процессе и для публикаций.

12 Оценка выпускной квалификационной работы ("отлично", "хорошо", "удовлетворительно", "неудовлетворительно") и рекомендация о присвоении (не присвоении) студенту-выпускнику квалификации (степени). Выпускная квалификационная работа заслуживает оценки отлично и студенту выпускнику рекомендуется присвоить квалификацию бакалавр.

Рецензент

ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России
к.б.н., доцент кафедры фундаментальной
и прикладной микробиологии

Борцова Ю.Л.



РЕЦЕНЗИЯ

на выпускную квалификационную работу студента группы Б-401 А группы
(Форма выпускной квалификационной работы) (Шифр группы)

Гумеровой Адель Рафаэлевны
(Фамилия, имя, отчество полностью)

на тему: «Сравнительное исследование бактериальных генов сурфактина, фенгицина и итурина»

1 Объем текстовой части (пояснительной записки) и иллюстрационно-графического материала, соответствие наименования и содержания разделов работы заданию, выданному кафедрой. Полностью соответствует.

2 Актуальность тематики проблемы, решаемой в выпускной квалификационной работе, и качество ее решения. Тема выпускной квалификационной работы очень актуальна.

3 Основные достоинства и недостатки выпускной квалификационной работы. Выпускная квалификационная работа выполнена в соответствии с требованиями, проведен большой анализ литературных источников по заявленной тематике.

4 Технично-экономические, социально-экономические, экологические обоснования, обоснования вопросов безопасности жизнедеятельности, разработанные в выпускной квалификационной работе. Имеет социально-экономическое значение в микробиологической науке.

5 Уровень использования вычислительной техники и программных средств. Освоены методы планирования и анализа.

6 Апробация и реализация результатов, полученных в выпускной квалификационной работе: патенты, внедрения, публикации, сообщения на конференциях и др.

7 Практическая и теоретическая подготовленность выпускника к выполнению профессиональных задач. Хороший уровень подготовки.

8 Качество оформления текстовой части (пояснительной записки) и иллюстрационно-графического материала в соответствии с требованиями действующих стандартов и регламентов. Работа оформлена в соответствии с требованиями.

9 Обоснованность выводов и предложений. Автором тема глубоко изучена и проработана, заслуживают внимания результаты и обсуждение.

10 Замечания по усмотрению рецензента. Замечаний нет (дополнительные замечания представлены на листах приложения).

11 Возможность использования результатов, полученных в выпускной квалификационной работе, для публикации, реализации в учебном процессе, рекомендуемых к внедрению или др. Результаты могут быть использованы в дальнейшем в учебном процессе и для публикаций.

12 Оценка выпускной квалификационной работы ("отлично", "хорошо", "удовлетворительно", "неудовлетворительно") и рекомендация о присвоении (не присвоении) студенту-выпускнику квалификации (степени). Выпускная квалификационная работа заслуживает оценки отлично и студенту выпускнику рекомендуется присвоить квалификацию бакалавр.

Рецензент
д.б.н., заведующий лабораторией
геномики растений ИБГ УФИЦ РАН



Кулуев Б.Р.

ОТЗЫВ

на выпускную квалификационную работу студента группы Б-401А
(Форма выпускной квалификационной работы) (Шифр группы)
Гумеровой Адель Рафаэлевны
(Фамилия, имя, отчество полностью)

на тему: «Сравнительное исследование бактериальных генов сурфактина, фенгицина и итурина»

1 Объем текстовой части (пояснительной записки) и графического материала, соответствие работы заданию
Полностью соответствует

2 Актуальность темы выпускной квалификационной работы (ВКР).

Тема работы актуальна. Изучение генов сурфактина, фенгицина и итурина раскрывает возможности прогнозирования свойств новых штаммов-продуцентов биосурфактантов.

3 Умение самостоятельно и творчески решать задачи, поставленные в задании на выполнение ВКР, подготовленность к выполнению профессиональных задач Выпускник проявил умение самостоятельно и творчески решать поставленные задачи, отличную подготовку на практическом и теоретическом уровне, готов к выполнению профессиональных задач.

4 Использование современных информационных технологий при выполнении и оформлении ВКР.
При написании работы использовались следующие программы: Microsoft Word, Microsoft Excel, владение программами хорошее

5 Умение пользоваться справочной, научной, научно-технической и патентной литературой, в том числе зарубежной. Выпускник показал отличное умение использовать справочную, научную, научно-техническую и патентную литературу

6 Соблюдение календарного графика подготовки ВКР.

7 Качество оформления текстовой части (пояснительной записки) и иллюстрационно-графического материала ВКР в соответствии с требованиями действующих стандартов и регламентов. Работа оформлена в соответствии с требованиями, предъявляемыми к оформлению содержания выпускных квалификационных работ (ВКР) студентов выпускных курсов БГМУ

8 Дополнительные сведения о ВКР и работе студента в период ее подготовки (при необходимости) _____
Работа выполнена в соответствии с предъявляемыми требованиями
(дополнительные сведения представлены на _____ листах приложения)

9 Апробация и реализация результатов, полученных в ВКР: патенты, внедрения, публикации, сообщения на конференциях и др. Тема ВКР проработана и изучена, результаты могут быть опубликованы в научной печати

10 Возможность использования результатов, полученных в ВКР, в учебном процессе и в производстве, а также возможность опубликования в открытой печати результатов, полученных в ВКР или другое

11 Оценка выпускной квалификационной работы ("отлично", "хорошо", "удовлетворительно") и рекомендация о присвоении квалификации. «Отлично» _____
Выпускная квалификационная работа заслуживает оценки отлично при успешной сдаче
Руководитель выпускной квалификационной работы

Научный руководитель:

ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России
д.б.н., профессор кафедры фундаментальной
и прикладной микробиологии



(Подпись)

Маркушева Т.В.

СПРАВКА

о результатах проверки текстового документа
на наличие заимствований

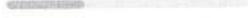
Башкирский государственный медицинский
университет

ПРОВЕРКА ВЫПОЛНЕНА В СИСТЕМЕ АНТИПЛАГИАТ.ВУЗ

Автор работы: Гумерова Адель Рафаэлевна
Самоцитирование
рассчитано для: Гумерова Адель Рафаэлевна
Название работы: Сравнительное исследование бактериальных генов сурфактина, фенгидина и итурина
Тип работы: Выпускная квалификационная работа
Подразделение:

РЕЗУЛЬТАТЫ

■ ОТЧЕТ О ПРОВЕРКЕ КОРРЕКТИРОВАЛСЯ: НИЖЕ ПРЕДСТАВЛЕНЫ РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОВЕРКИ ДО КОРРЕКТИРОВКИ

ЗАИМСТВОВАНИЯ		13.03%	ЗАИМСТВОВАНИЯ		13.43%
ОРИГИНАЛЬНОСТЬ		55.22%	ОРИГИНАЛЬНОСТЬ		86.04%
ЦИТИРОВАНИЯ		31.75%	ЦИТИРОВАНИЯ		0.54%
САМОЦИТИРОВАНИЯ		0%	САМОЦИТИРОВАНИЯ		0%

ДАТА ПОСЛЕДНЕЙ ПРОВЕРКИ: 20.06.2022

ДАТА И ВРЕМЯ КОРРЕКТИРОВКИ: 20.06.2022 12:26

Модули поиска: ИПС Адилет; Модуль поиска "БГМУ"; Библиография; Сводная коллекция ЭБС; Интернет Плюс; Сводная коллекция РГБ; Цитирование; Переводные заимствования (RuEn); Переводные заимствования по eLIBRARY.RU (EnRu); Переводные заимствования по Интернету (EnRu); Переводные заимствования издательства Wiley (RuEn); eLIBRARY.RU; СПС ГАРАНТ; Медицина; Диссертации НББ; Перефразирование по eLIBRARY.RU; Перефразирование по Интернету; Перефразирование по коллекции издательства Wiley; Патенты СССР, РФ, СНГ; СМИ России и СНГ; Шаблонные фразы; Кольцо вузов; Издательство Wiley; Переводные заимствования

Работу проверил: Кобзева Наталья Рудольфовна

ФИО проверяющего

Дата подписи: 21.06.2022



Подпись проверяющего

ФГБОУ ВО БГМУ
Минздрава России
НАУЧНАЯ БИБЛИОТЕКА



Чтобы убедиться
в подлинности справки, используйте QR-код,
который содержит ссылку на отчет.

Ответ на вопрос, является ли обнаруженное заимствование
корректным, система оставляет на усмотрение проверяющего.
Предоставленная информация не подлежит использованию
в коммерческих целях.

Отчет о проверке на заимствования №1



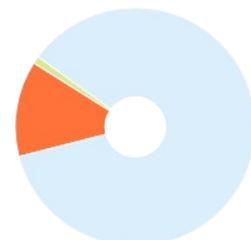
Автор: Гумерова Аделя Рафаэлевна
Проверяющий: Кобзева Наталья Рудольфовна (nrkob@mail.ru / ID: 5)
Организация: Башкирский государственный медицинский университет
 Отчет предоставлен сервисом «Антиплагиат» - <http://bashgmu.antiplagiat.ru>

ИНФОРМАЦИЯ О ДОКУМЕНТЕ

№ документа: 10864
 Начало загрузки: 20.06.2022 12:23:05
 Длительность загрузки: 00:00:13
 Корректировка от 20.06.2022 12:26:26
 Имя исходного файла: Гумерова, ВКР.docx
 Название документа: Сравнительное исследование бактериальных генов сурфактина, фенгцидина и итурина
 Размер текста: 1 кБ
 Символов в тексте: 98206
 Слов в тексте: 12100
 Число предложений: 2107

ИНФОРМАЦИЯ ОБ ОТЧЕТЕ

Последний готовый отчет (ред.)
 Начало проверки: 20.06.2022 12:23:19
 Длительность проверки: 00:00:48
 Комментарии: [Автосохраненная версия]
 Поиск с учетом редактирования: да
 Модули поиска: ИПС Адилет, Модуль поиска "БГМУ", Библиография, Сводная коллекция ЭБС, Интернет Плюс, Сводная коллекция РГБ, Цитирование, Переводные заимствования (RuEn), Переводные заимствования по eLIBRARY.RU (EnRu), Переводные заимствования по Интернету (EnRu), Переводные заимствования издательства Wiley (RuEn), eLIBRARY.RU, СПС ГАРАНТ, Медицина, Диссертации НББ, Перефразирования по eLIBRARY.RU, Перефразирования по Интернету, Перефразирования по коллекции издательства Wiley, Патенты СССР, РФ, СНГ, СМИ России и СНГ, Шаблонные фразы, Кольцо вузов, Издательство Wiley, Переводные заимствования



ЗАИМСТВОВАНИЯ

13,43%

САМОЦИТИРОВАНИЯ

0%

ЦИТИРОВАНИЯ

0,54%

ОРИГИНАЛЬНОСТЬ

86,03%

Заимствования — доля всех найденных текстовых пересечений, за исключением тех, которые система отнесла к цитированиям, по отношению к общему объему документа.
 Самоцитирование — доля фрагментов текста проверяемого документа, совпадающий или почти совпадающий с фрагментом текста источника, автором или соавтором которого является автор проверяемого документа, по отношению к общему объему документа.
 Цитирование — доля текстовых пересечений, которые не являются авторскими, но система посчитала их использование корректным, по отношению к общему объему документа. Сюда относятся оформленные по ГОСТу цитаты; общеупотребительные выражения; фрагменты текста, найденные в источниках из коллекций нормативно-правовой документации.
 Текстовое пересечение — фрагмент текста проверяемого документа, совпадающий или почти совпадающий с фрагментом текста источника.
 Источник — документ, проиндексированный в системе и содержащийся в модуле поиска, по которому проводится проверка.
 Оригинальность — доля фрагментов текста проверяемого документа, не обнаруженных ни в одном источнике, по которым шла проверка, по отношению к общему объему документа.
 Заимствования, самоцитирование, цитирования и оригинальность являются отдельными показателями и в сумме дают 100%, что соответствует всему тексту проверяемого документа.
 Обращаем Ваше внимание, что система находит текстовые пересечения проверяемого документа с проиндексированными в системе текстовыми источниками. При этом система является вспомогательным инструментом, определение корректности и правомерности заимствований или цитирований, а также авторства текстовых фрагментов проверяемого документа остается в компетенции проверяющего.

№	Доля в отчете	Доля в тексте	Источник	Актуален на	Модуль поиска	Блоков в отчете	Блоков в тексте	Комментарии
[01]	0%	31,02%	не указано	13 Янв 2022	Библиография	0	1	
[02]	0,43%	20,72%	https://kpfu.ru/portal/docs/F_1467650834/163_2_est_2.pdf https://kpfu.ru	31 Мая 2022	Интернет Плюс	5	61	
[03]	0,13%	20,45%	БИОСУРФАКТАНТЫ: СОВРЕМЕННЫЕ ТРЕНДЫ ПРИМЕНЕНИЯ – тема научной статьи по промышленным биотехнологиям читайте бесплатно текст научно-исследовательской работы в электронной библиотеке КиберЛенинка https://cyberleninka.ru	20 Июн 2022	Интернет Плюс	1	77	
[04]	2,4%	4,11%	Дубилей, Светлана Алексеевна Пептид-нуклеотидные антибиотики семейства микроцинов С : разнообразие и общие механизмы действия, биосинтеза и иммуности : диссертация ... доктора биологических наук : 03.01.03 Москва 2020 http://dlib.rsl.ru	04 Фев 2022	Сводная коллекция РГБ	5	10	
[05]	0,32%	3,37%	16_references.pdf http://shodhganga.inflibnet.ac.in:8080	15 Июн 2021	Интернет Плюс	6	66	
[06]	2,73%	3,22%	Монография Празднова, Мазанко, Горовцов	31 Мар 2022	Кольцо вузов	8	10	
[07]	0,48%	3,19%	Поиск генов NRPS в пробиотических бактериях рода Bacillus	10 Июн 2019	Кольцо вузов	2	11	
[08]	0%	2,78%	Празднова, Евгения Валерьевна Антимутагенное действие пробиотиков как основа их биологического эффекта : диссертация ... доктора биологических наук :	07 Сен 2020	Сводная коллекция РГБ	0	12	

[09]	0%	2,46%	Biosurfactants: A Covid-19 Perspective https://frontiersin.org	20 Июн 2022	Интернет Плюс	0	43
[10]	0%	2,27%	не указано https://doi.org	21 Окт 2019	Интернет Плюс	0	39
[11]	1,34%	1,96%	курсовая работа Чемар_ва А.В. 54 группа	05 Мая 2018	Кольцо вузов	2	2
[12]	0,54%	1,96%	Бондаренко Юлия Владимировна Yulya_Bondarenko_kursovaya_Virusny_g epatit_C.docx	07 Мая 2018	Кольцо вузов	1	1
[13]	0%	1,95%	курсовая работа Заяц Дарья 4 курс 54 группа	05 Мая 2018	Кольцо вузов	0	1
[14]	0%	1,93%	Saponins and microbial biosurfactants: Potential raw materials for the formulation of cosmetics https://doi.org	раньше 2011	Издательство Wiley	0	31
[15]	0%	1,91%	Соловей Елена Леонидовна Дипломная 2018_Соловей_05.06.18.doc	06 Июн 2018	Кольцо вузов	0	1
[16]	0%	1,91%	диплом Чемарёва А.В. (2019-05-30) (2).docx	10 Июн 2019	Кольцо вузов	0	1
[17]	0%	1,91%	Diploma Bunas	22 Мая 2017	Кольцо вузов	0	1
[18]	0%	1,73%	1. Introduction http://mdpi.com	14 Ноя 2017	Интернет Плюс	0	32
[19]	0%	1,73%	1. Introduction http://mdpi.com	20 Июн 2022	Интернет Плюс	0	32
[20]	0%	1,71%	Ведерников, Виталий Евгеньевич диссертация ... кандидата биологических наук : 03.01.06 Новосибирск 2011 http://dlib.rsl.ru	раньше 2011	Сводная коллекция РГБ	0	2
[21]	0%	1,69%	Study of biosurfactant "cocktails" with enhanced properties https://core.ac.uk	20 Июн 2022	Интернет Плюс	0	25
[22]	0%	1,65%	Biosurfactants: A Covid-19 Perspective https://frontiersin.org	09 Июн 2020	СМИ России и СНГ	0	19
[23]	1,06%	1,61%	Прикладная биохимия и микробиология. Т. 56, Номер 1, 2020 https://sciencejournals.ru	26 Мая 2022	Интернет Плюс	12	16
[24]	0%	1,52%	Microbial biosurfactants: current trends and applications in agricultural and biomedical industries https://doi.org	31 Июл 2019	Издательство Wiley	0	20
[25]	0%	1,44%	Microbial biosurfactants as additives for food industries https://doi.org	15 Янв 2021	Издательство Wiley	0	22
[26]	0%	1,44%	Pseudomonas sp. BUP6, a novel isolate from Malabari goat produces an efficient rhamnolipid type biosurfactant https://doi.org	31 Янв 2017	Издательство Wiley	0	22
[27]	1,42%	1,42%	Перспективы применения бактерий – продуцентов липопептидов для защиты растений (обзор). http://elibrary.ru	11 Фев 2020	Перефразирования по eLIBRARY.RU	1	1
[28]	0%	1,37%	не указано https://doi.org	22 Окт 2019	Интернет Плюс	0	14
[29]	0%	1,17%	Production of microbial biosurfactants: Status quo of rhamnolipid and surfactin towards large- scale production https://doi.org	31 Июл 2017	Издательство Wiley	0	18
[30]	0%	1,15%	Biosynthesis of depsipeptides, or Depsi: The peptides with varied generations https://doi.org	31 Дек 2020	Перефразирования по коллекции издательства Wiley	0	4
[31]	0%	1,12%	Biosynthesis of depsipeptides, or Depsi: The peptides with varied generations https://doi.org	31 Дек 2020	Издательство Wiley	0	17
[32]	0%	1,1%	Biosurfactants and Their Applications in the Oil and Gas Industry: Current State of Knowledge and Future Perspectives https://frontiersin.org	15 Янв 2022	СМИ России и СНГ	0	11
[33]	0%	1,04%	Microbial biosurfactants: current trends and applications in agricultural and biomedical industries https://doi.org	31 Июл 2019	Перефразирования по коллекции издательства Wiley	0	5
[34]	0%	0,94%	Microbial biosurfactant research: time to improve the rigour in the reporting of synthesis, functional characterization and process development https://doi.org	31 Янв 2021	Издательство Wiley	0	14

[35]	0%	0,93%	https://jbks.ru/assets/files/content/2018/issue25/article-6.pdf https://jbks.ru	31 Мая 2021	Интернет Плюс	0	10
[36]	0%	0,93%	http://www.jbks.ru/assets/files/content/2018/issue25/article-6.pdf http://jbks.ru	10 Июн 2019	Интернет Плюс	0	10
[37]	0%	0,91%	Нерибосомально синтезируемые метаболиты и генетические механизмы их синтеза в реализации фунгицидного эффекта бактерий р. http://jbks.ru	20 Июн 2022	Интернет Плюс	0	10
[38]	0%	0,87%	Saponins and microbial biosurfactants: Potential raw materials for the formulation of cosmetics https://doi.org	раньше 2011	Перефразирования по коллекции издательства Wiley	0	4
[39]	0%	0,87%	Application of rhamnolipid biosurfactant produced by <i>Pseudomonas aeruginosa</i> in microbial-enhanced oil recovery (MEOR) SpringerLink https://link.springer.com	07 Июл 2021	Интернет Плюс	0	13
[40]	0%	0,81%	Льонг Тхи Мо Гликолипидные биосурфактанты, продуцируемые нефтеокисляющими бактериями рода <i>Rhodococcus</i> при пониженной температуре : диссертация ... кандидата химических наук : 03.01.06 Тула 2017 http://dlib.rsl.ru	01 Янв 2017	Сводная коллекция РГБ	0	6
[41]	0%	0,76%	https://jbks.ru/assets/files/content/2018/issue25/article-6.pdf https://jbks.ru	20 Июн 2022	Интернет Плюс	0	6
[42]	0%	0,76%	Response Surface Methodology for Optimizing the Production of Biosurfactant by <i>Candida tropicalis</i> on Industrial Waste Substrates https://frontiersin.org	24 Июн 2020	СМИ России и СНГ	0	8
[43]	0%	0,75%	Нерибосомально синтезируемые метаболиты и генетические механизмы их синтеза в реализации фунгицидного эффекта бактерий р. https://jbks.ru	20 Июн 2022	Интернет Плюс	0	6
[44]	0%	0,72%	Microbial biosurfactants as additives for food industries https://doi.org	15 Янв 2021	Перефразирования по коллекции издательства Wiley	0	2
[45]	0%	0,71%	Prazdnova Evgenia Valerievna, Andriyanov Alexander Igorevich, Vasilchenko Nikita Gennadyevich - PDF https://docplayer.ru	20 Июн 2022	Интернет Плюс	0	7
[46]	0%	0,71%	Rhamnolipids Produced by Indigenous <i>Acinetobacter junii</i> from Petroleum Reservoir and its Potential in Enhanced Oil Recovery https://frontiersin.org	04 Мар 2022	СМИ России и СНГ	0	6
[47]	0%	0,64%	Molecules Free Full-Text Biosurfactant Production and Growth Kinetics Studies of the Waste Canola Oil-Degrading Bacterium <i>Rhodococcus erythropolis</i> AQ5-07 from Antarctica HTML https://mdpi.com	13 Мая 2021	Интернет Плюс	0	9
[48]	0%	0,63%	Frontiers Use of Microorganisms in the Recovery of Oil From Recalcitrant Oil Reservoirs: Current State of Knowledge, Technological Advances and Future Perspectives Microbiology https://frontiersin.org	10 Июн 2022	Интернет Плюс	0	5
[49]	0%	0,6%	Laboratory Investigation of Indigenous Consortia TERJ-188 for Incremental Oil Recovery https://frontiersin.org	21 Мая 2020	СМИ России и СНГ	0	6
[50]	0%	0,59%	Титова, Майя Адольфовна Подходы к моделированию иммуногенных пептидов : диссертация ... кандидата химических наук : 02.00.10 Москва 2003 http://dlib.rsl.ru	20 Янв 2010	Сводная коллекция РГБ	0	3
[51]	0%	0,59%	Production of Lipopeptide Biosurfactant by a Marine <i>Nesterenkonia</i> sp. and Its Application in Food Industry https://frontiersin.org	20 Авг 2020	СМИ России и СНГ	0	6
[52]	0%	0,58%	Trehalose Lipid Biosurfactant Reduces Adhesion of Microbial Pathogens to Polystyrene and Silicone Surfaces: An Experimental and Computational Approach https://frontiersin.org	21 Мая 2020	СМИ России и СНГ	0	7

[53]	0%	0,58%	Apoplatic invasion patterns triggering plant immunity: plasma membrane sensing at the frontline https://doi.org	30 Ноя 2019	Издательство Wiley	0	7
[54]	0,38%	0,57%	не указано	13 Янв 2022	Шаблонные фразы	11	15
[55]	0,57%	0,57%	http://www.academy.edu.by/files/podrazdelenia/biol/tsepnaya%20reactsia-biol%202019.pdf http://academy.edu.by	20 Июн 2022	Интернет Плюс	5	5
[56]	0%	0,57%	http://www.academy.edu.by/files/podrazdelenia/biol/tsepnaya%20reactsia-biol%202019.pdf http://academy.edu.by	20 Июн 2022	Интернет Плюс	0	5
[57]	0,19%	0,56%	Review Chemical Structure, Property and Potential Applications of Biosurfactants Produced by <i>Bacillus subtilis</i> in Petroleum Recovery and Spill Mitigation http://mdpi.com	06 Янв 2018	Переводные заимствования (RuEn)	1	2
[58]	0%	0,56%	Modern lipid-, carbohydrate-, and peptide- based delivery systems for peptide, vaccine, and gene products https://doi.org	31 Июл 2011	Издательство Wiley	0	8
[59]	0%	0,55%	Anticancer Activities of Surfactin and Potential Application of Nanotechnology Assisted Surfactin Delivery https://frontiersin.org	07 Окт 2020	СМИ России и СНГ	0	5
[60]	0%	0,54%	Абизгильдина, Регина Рамилевна диссертация ... кандидата биологических наук : 03.01.05 Уфа 2012 http://dlib.rsl.ru	28 Фев 2015	Сводная коллекция РГБ	0	5
[61]	0%	0,54%	https://mipt.ru/upload/medialibrary/483/dissertatsiya-prazdnovoy-e-v-22.02.20_1.pdf https://mipt.ru	08 Июн 2022	Интернет Плюс	0	8
[62]	0%	0,54%	https://mipt.ru/upload/medialibrary/483/dissertatsiya-prazdnovoy-e-v-22.02.20_1.pdf https://mipt.ru	26 Апр 2022	Интернет Плюс	0	8
[63]	0,52%	0,52%	МЕТОДЫ СКРИНИНГА БИОСУРФАКТАНТ-ПРОДУЦИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ (МИНИ ОБЗОР). http://elibrary.ru	21 Янв 2019	Перефразирования по eLIBRARY.RU	1	1
[64]	0%	0,51%	Microbial biosurfactant research: time to improve the rigour in the reporting of synthesis, functional characterization and process development https://doi.org	31 Янв 2021	Перефразирования по коллекции издательства Wiley	0	3
[65]	0%	0,5%	http://www.ibpm.ru/attachments/article/450/Delegan_PhD_fin_2.pdf http://ibpm.ru	08 Июн 2022	Интернет Плюс	0	3
[66]	0%	0,5%	http://www.ibpm.ru/attachments/article/450/Delegan_PhD_fin_2.pdf http://ibpm.ru	28 Апр 2022	Интернет Плюс	0	3
[67]	0%	0,5%	Делеган, Янина Адальбертовна Термотолерантные бактерии-деструкторы углеводородов нефти : диссертация ... кандидата биологических наук : 03.01.06 Пущино 2016 http://dlib.rsl.ru	27 Дек 2019	Сводная коллекция РГБ	0	3
[68]	0%	0,49%	Isolation and Characterization of Fengycins Produced by <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> JFL21 and Its Broad-Spectrum Antimicrobial Potential Against Multidrug-Resistant Foodborne Pathogens https://frontiersin.org	13 Янв 2021	СМИ России и СНГ	0	3
[69]	0%	0,48%	A Straightforward Assay for Screening and Quantification of Biosurfactants in Microbial Culture Supernatants https://frontiersin.org	20 Авг 2020	СМИ России и СНГ	0	4
[70]	0%	0,46%	Biochemical, Molecular, and Transcriptional Highlights of the Biosynthesis of an Effective Biosurfactant Produced by <i>Bacillus safensis</i> PHA3, a Petroleum-Dwelling Bacteria https://frontiersin.org	18 Июн 2020	СМИ России и СНГ	0	5
[71]	0%	0,46%	Sophorolipid analog compositions - GROSS RICHARD A. (2/2) http://freepatentsonline.com	05 Ноя 2016	Патенты СССР, РФ, СНГ	0	2
[72]	0%	0,46%	Sophorolipid Analog Compositions - GROSS RICHARD A. (2/2)	09 Ноя 2016	Патенты СССР, РФ, СНГ	0	2

			http://freepatentsonline.com				
[73]	0%	0,46%	Oligomeric ketone compounds - BTG International Limited (1/2) http://freepatentsonline.com	06 Ноя 2016	Патенты СССР, РФ, СНГ	0	2
[74]	0%	0,46%	Коршунова, Татьяна Юрьевна Микробиологические технологии ликвидации нефтезагрязнений в различных климатических условиях : диссертация ... доктора биологических наук : 03.01.06, 03.02.03 Уфа 2019 http://dlib.rsl.ru	14 Июнь 2019	Сводная коллекция РГБ	0	3
[75]	0%	0,44%	The expansion of mechanistic and organismic diversity associated with non-ribosomal peptides. http://elibrary.ru	22 Авг 2014	eLIBRARY.RU	0	2
[76]	0%	0,44%	Iturinic Lipopeptide Diversity in the Bacillus subtilis Species Group - Important Antifungals for Plant Disease Biocontrol Applications https://frontiersin.org	27 Окт 2020	СМИ России и СНГ	0	5
[77]	0%	0,43%	Nonribosomal peptides synthetases and their applications in industry Sustainable Chemical Processes Full Text https://sustainablechemicalprocesses.springeropen.com	07 Июнь 2021	Интернет Плюс	0	3
[78]	0%	0,43%	ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ NRPS В БАЦИЛЛАХ С АНТИФУЗАРИОЗНОЙ АКТИВНОСТЬЮ	10 Июнь 2019	Кольцо вузов	0	2
[79]	0%	0,42%	ОСОБЕННОСТИ АНТАГОНИЗМА БАКТЕРИЙ РОДА BACILLUS ПО ОТНОШЕНИЮ К ТОКСИНОГЕННЫМ ГРИБАМ FUSARIUM ПРИ ЗАЩИТЕ РАСТЕНИЙ ОТ БОЛЕЗНИ И КОНТАМИНАЦИИ МИКОТОКСИНАМИ (ОБЗОР) – тема научной статьи по биологическим наукам читайте бесплатно текст научно-исследовательско... https://cyberleninka.ru	15 Июнь 2022	Интернет Плюс	0	5
[80]	0%	0,4%	The Surfactin-Like Lipopeptides From Bacillus spp.: Natural Biodiversity and Synthetic Biology for a Broader Application Range https://frontiersin.org	02 Мар 2021	СМИ России и СНГ	0	4
[81]	0%	0,4%	https://biorosinfo.ru/upload/file/vestnik/2017/Journal_2017%20V%2013%20No%204.pdf https://biorosinfo.ru	03 Мар 2020	Интернет Плюс	0	6
[82]	0,14%	0,39%	Рубцова, Екатерина Владиславовна диссертация ... кандидата биологических наук : 03.02.03 Пермь 2011 http://dlib.rsl.ru	раньше 2011	Сводная коллекция РГБ	1	3
[83]	0%	0,38%	Bacillus subtilis - Wikipedia https://translated.turbopages.org	10 Июнь 2022	Интернет Плюс	0	1
[84]	0%	0,38%	Recognition of Elicitors in Grapevine: From MAMP and DAMP Perception to Induced Resistance https://frontiersin.org	17 Ноя 2020	СМИ России и СНГ	0	3
[85]	0%	0,38%	Куюкина, Мария Станиславовна диссертация ... доктора биологических наук : 03.00.07 Пермь 2006 http://dlib.rsl.ru	20 Янв 2010	Сводная коллекция РГБ	0	3
[86]	0,22%	0,38%	ЭЛЕКТИВНАЯ ПИТАТЕЛЬНАЯ СРЕДА ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ ПСЕВДОТУБЕРКУЛЕЗА. http://elibrary.ru	раньше 2011	Перефразирования по eLIBRARY.RU	2	1
[87]	0%	0,37%	Paleobiological significance of hydrophobicity and adhesion of phototrophic bacteria from microbial mats. http://elibrary.ru	раньше 2011	eLIBRARY.RU	0	2
[88]	0%	0,36%	High-titer production and strong antimicrobial activity of sophorolipids from Rhodotorula bogoriensis https://doi.org	31 Июль 2015	Издательство Wiley	0	5
[89]	0%	0,35%	Чжан Данянь диссертация ... кандидата технических наук : 03.02.08, 03.01.06 Москва 2011 http://dlib.rsl.ru	раньше 2011	Сводная коллекция РГБ	0	3
[90]	0%	0,35%	Cost effective technologies and renewable substrates for biosurfactants' production	10 Ноя 2020	СМИ России и СНГ	0	4

<https://frontiersin.org>

[91]	0%	0,34%	Assembly of aryl-capped siderophores by modular peptide synthetases and polyketide synthases. http://elibrary.ru	26 Авг 2000	eLIBRARY.RU	0	2
[92]	0%	0,33%	Бадыкова, Елена Альбертовна Анализ неблагоприятных сердечно-сосудистых событий и генов соединительной ткани при синдроме слабости синусового узла : диссертация ... кандидата медицинских наук : 14.01.05 Уфа 2019 http://dlib.rsl.ru	16 Июнь 2021	Сводная коллекция РГБ	0	2
[93]	0%	0,32%	Isolation and Characterization of Biosurfactant-Producing Bacteria From Oil Well Batteries With Antimicrobial Activities Against Food-Borne and Plant Pathogens https://frontiersin.org	12 Фев 2021	СМИ России и СНГ	0	3
[94]	0%	0,32%	Killing Two Birds With One Stone - Strain Engineering Facilitates the Development of a Unique Rhamnolipid Production Process https://frontiersin.org	15 Янв 2022	СМИ России и СНГ	0	4
[95]	0%	0,31%	https://bashedu.ru/sites/default/files/diss_ovets_files/disrab/dissertaciya_kuramshin_oy.pdf https://bashedu.ru	13 Янв 2022	Интернет Плюс	0	3
[96]	0%	0,3%	Фундаментальные исследования. № 4, часть 4, 2013 http://bibliorossica.com	26 Мая 2016	Сводная коллекция ЭБС	0	2
[97]	0%	0,3%	http://ecobiotech-journal.ru/2020/pdf/ecbtch2001018.pdf http://ecobiotech-journal.ru	05 Мая 2022	Интернет Плюс	0	2
[98]	0%	0,29%	http://library.bscnet.ru/store/books/VasiljevBakter.pdf http://library.bscnet.ru	26 Мая 2022	Интернет Плюс	0	2
[99]	0%	0,29%	https://biosinfo.ru/upload/file/journal_2020_v_16_no_2.pdf https://biosinfo.ru	21 Апр 2022	Интернет Плюс	0	2
[100]	0,29%	0,29%	Моделирование биопленки у бактерий на плотной питательной среде и изучение закономерностей формирования устойчивости к триклозану http://emll.ru	08 Июл 2017	Медицина	1	1
[101]	0%	0,29%	Apoptotic invasion patterns triggering plant immunity: plasma membrane sensing at the frontline https://doi.org	30 Ноя 2019	Перефразирования по коллекции издательства Wiley	0	1
[102]	0%	0,28%	Мохамед Хассан Авад Ахмед Особенности микробных ассоциаций скелетных частей яблонь (<i>Malus domestica</i> Borkh., 1803) при микозных усыханиях на территории Саратовской области : диссертация ... кандидата биологических наук : 03.02.03 Саратов 2017 http://dlib.rsl.ru	27 Дек 2019	Сводная коллекция РГБ	0	2
[103]	0,26%	0,26%	Определение качественного состава микроорганизмов по культуральным и морфологическим признакам http://studopedia.net	08 Янв 2017	Перефразирования по Интернету	1	1
[104]	0%	0,26%	Общая и пищевая микробиология: учебное пособие. Часть I. https://e.lanbook.com	22 Янв 2020	Сводная коллекция ЭБС	0	2
[105]	0%	0,25%	Heterologous production of <i>Pseudomonas aeruginosa</i> rhamnolipid under anaerobic conditions for microbial enhanced oil recovery https://doi.org	26 Янв 2021	Перефразирования по коллекции издательства Wiley	0	1
[106]	0%	0,25%	Generation of immune response using immunogenic conjugate of molecules - Connaught Laboratories Limited (2/2) http://freepatentsonline.com	06 Ноя 2016	Патенты СССР, РФ, СНГ	0	2
[107]	0%	0,25%	ПОИСК ГЕНОВ НЕРИБОСОМАЛЬНОГО СИНТЕЗА В КУЛЬТУРОМЕ ПОЧВЕННЫХ СПОРООБРАЗУЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ	09 Фев 2022	Кольцо вузов	0	3
[108]	0%	0,24%	Серебренникова, Марина Константиновна диссертация ... кандидата биологических наук : 03.02.03 Пермь 2014	раньше 2011	Сводная коллекция РГБ	0	2

<http://dlib.rsl.ru>

[109]	0%	0,24%	Празднова, Евгения Валерьевна Антимутагенное действие пробиотиков как основа их биологического эффекта : автореферат дис. ... доктора биологических наук : 03.01.03 Ростов-на-Дону 2020 http://dlib.rsl.ru	12 Янв 2021	Сводная коллекция РГБ	0	1
[110]	0%	0,24%	Inhibitory Effects of Carbazomycin B Produced by Streptomyces roseovercillatus 63 Against Xanthomonas oryzae pv. oryzae https://frontiersin.org	24 Мар 2021	СМИ России и СНГ	0	2
[111]	0%	0,23%	Кулаковская, Екатерина Владимировна диссертация ... кандидата биологических наук : 03.00.04 Пушкино 2006 http://dlib.rsl.ru	раньше 2011	Сводная коллекция РГБ	0	1
[112]	0%	0,21%	Biosurfactant production: emerging trends and promising strategies https://doi.org	26 Янв 2021	Перефразирования по коллекции издательства Wiley	0	1
[113]	0%	0,2%	Глава 3. Определение качественного состава микроорганизмов по культуральным, морфологическим и физиолого-биохимическим признакам http://studfiles.ru	30 Янв 2017	Перефразирования по Интернету	0	1
[114]	0%	0,19%	Менеджмент и Бизнес- Администрирование: научно- практическое издание. 2017. № 2 http://biblioclub.ru	21 Янв 2020	Сводная коллекция ЭБС	0	1
[115]	0,01%	0,19%	Применение композитно- армированной культевой штифтовой вкладки при протезировании полного дефекта коронковой части зуба (экспериментально-клиническое исследование) http://dep.nlb.by	16 Янв 2020	Диссертации НББ	1	1
[116]	0%	0,19%	Йодсодержащие тиреоидные гормоны в кариесрезистентности твёрдых тканей зуба при стрессе в эксперименте http://dep.nlb.by	16 Янв 2020	Диссертации НББ	0	1
[117]	0%	0,19%	БИОТЕХНОЛОГИЧНИЙ ПОТЕНЦИАЛ БАКТЕРИЙ РОДУ RHODOCOCCLUS TA IX МЕТАБОЛИТИВ. http://elibrary.ru	16 Дек 2016	eLIBRARY.RU	0	1
[118]	0,18%	0,18%	Update of the list of QPS- recommended biological agents intentionally added to food or feed as notified to EFSA 10: Suitability of taxonomic units notified to EFSA until March 2019 https://doi.org	31 Июл 2019	Перефразирования по коллекции издательства Wiley	1	1
[119]	0%	0,18%	Pseudomonas sp. BUP6, a novel isolate from Malabari goat produces an efficient rhamnolipid type biosurfactant https://doi.org	31 Янв 2017	Перефразирования по коллекции издательства Wiley	0	1
[120]	0%	0,18%	Bacillus sp. B5061 Suppresses Powdery Mildew and Gray Mold https://ncbi.nlm.nih.gov	20 Июн 2022	Интернет Плюс	0	3
[121]	0,18%	0,18%	Бульон для стрептококков (по Тодд- Хьюиту) http://vbibl.ru	29 Янв 2017	Перефразирования по Интернету	1	1
[122]	0%	0,18%	Characterization of Biosurfactant Produced during Degradation of Hydrocarbons Using Crude Oil As Sole Source of Carbon https://frontiersin.org	26 Фев 2022	СМИ России и СНГ	0	1
[123]	0%	0,18%	T. 2 http://emll.ru	28 Апр 2017	Медицина	0	1
[124]	0%	0,18%	T. LXV, вып. 2 http://emll.ru	28 Апр 2017	Медицина	0	1
[125]	0%	0,18%	Прогнозирование преждевременных родов на основании комплексной оценки клинических и иммунологических показателей http://dep.nlb.by	06 Дек 2018	Диссертации НББ	0	1
[126]	0%	0,18%	Лекарственные травы и средства ухода за контактными линзами. http://elibrary.ru	23 Янв 2019	Перефразирования по eLIBRARY.RU	0	1
[127]	0%	0,18%	Shared PKS Module in Biosynthesis of Synergistic Laxaphycins https://frontiersin.org	16 Сен 2020	СМИ России и СНГ	0	1

ЛИПОПЕПТИДЫ ЭНДОФИТОВ И

[128]	0%	0,18%	ФИТОИММУНИТЕТ: ПЕРСПЕКТИВЫ ПРАКТИЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ. http://elibrary.ru	27 Мая 2019	Перефразирования по eLIBRARY.RU	0	1	
[129]	0%	0,17%	Oil sludge washing with surfactants and co-solvents: oil recovery from different types of oil sludges SpringerLink https://link.springer.com	08 Июн 2022	Интернет Плюс	0	1	
[130]	0%	0,17%	ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ УСТОЙЧИВЫХ К ВАНКОМИЦИНУ ШТАММОВ КОАГУЛАЗОНЕГАТИВНЫХ СТАФИЛОКОККОВ. http://elibrary.ru	29 Авг 2010	eLIBRARY.RU	0	1	
[131]	0%	0,16%	New immunogenic preparation, useful for preparing a composition for treating or preventing infections caused by HIV, Hepatitis B or C virus, Rous-Sarcoma virus or Chlamydia pneumoniae - CUREVAC GMBH (2/2) http://freepatentsonline.com	07 Ноя 2016	Патенты СССР, РФ, СНГ	0	1	
[132]	0,16%	0,16%	Информация Министерства здравоохранения РФ от 24 сентября 2013 г. "Общие фармакопейные статьи и фармакопейные статьи на иммунобиологические лекарственные средства и методы оценки их качества" http://ivo.garant.ru	21 Июн 2019	СПС ГАРАНТ	2	2	
[133]	0%	0,15%	Biogenous surfactants for increase of efficiency of feeds for farm animals. http://elibrary.ru	06 Авг 2010	eLIBRARY.RU	0	1	
[134]	0%	0,15%	Фитохимический анализ 2018	13 Апр 2018	Модуль поиска "БГМУ"	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[135]	0%	0,15%	ДиссерЛ	08 Фев 2013	Модуль поиска "БГМУ"	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[136]	0%	0,15%	Кочина, Олеся Алексеевна Иммунорегуляторные свойства биосурфактанта Rhodococcus ruber : диссертация ... кандидата биологических наук : 14.03.09 Пермь 2018 http://dlib.rsl.ru	01 Янв 2018	Сводная коллекция РГБ	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[137]	0%	0,15%	69578 http://e.lanbook.com	09 Мар 2016	Сводная коллекция ЭБС	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[138]	0%	0,14%	Насертдинов, Динар Дамирович Разработка и оценка эффективности полиспецифической гипериммунной сыворотки против анаэробной энтеротоксемии и эшерихиозной диареи телят : диссертация ... кандидата ветеринарных наук : 06.02.02 Казань 2018 http://dlib.rsl.ru	12 Янв 2021	Сводная коллекция РГБ	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[139]	0%	0,14%	Sequence of the putative alanine racemase operon in Staphylococcus aureus: insertional interruption of this operon reduces d-alanine substitution of lipoteichoic acid and autolysis. http://elibrary.ru	раньше 2011	eLIBRARY.RU	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[140]	0%	0,14%	Красюк диссертация антиплагиат	30 Мая 2018	Модуль поиска "БГМУ"	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[141]	0%	0,14%	Т. 2 http://emll.ru	08 Июл 2017	Медицина	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[142]	0%	0,13%	Артамонова, Марина Николаевна Ризосферные бактерии Bacillus subtilis и их ростстимулирующее влияние на Cucurbita pepo L. : диссертация ... кандидата биологических наук : 03.02.03 Ульяновск 2017 http://dlib.rsl.ru	19 Фев 2018	Сводная коллекция РГБ	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[143]	0%	0,12%	ЭФФЕКТИВНОСТЬ АЭРОБНЫХ СПОРООБРАЗУЮЩИХ БАКТЕРИЙ В БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЗАЩИТЕ ПШЕНИЦЫ ОТ <i>Septoria nodorum</i> BERK. http://elibrary.ru	раньше 2011	eLIBRARY.RU	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[144]	0%	0,11%	Практикум по ветеринарно-санитарной экспертизе http://ibooks.ru	09 Дек 2016	Сводная коллекция ЭБС	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[145]	0%	0,11%	Принципы и методы биохимии и молекулярной биологии http://bibliorossica.com	раньше 2011	Сводная коллекция ЭБС	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.

[146]	<input type="text" value="0%"/>	0,11%	66244 http://e.lanbook.com	09 Мар 2016	Сводная коллекция ЭБС	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[147]	<input type="text" value="0%"/>	0,11%	8704 http://e.lanbook.com	раньше 2011	Сводная коллекция ЭБС	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[148]	<input type="text" value="0%"/>	0,11%	214311 http://biblioclub.ru	18 Апр 2016	Сводная коллекция ЭБС	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[149]	<input type="text" value="0%"/>	0,11%	[Э. Эйткен и др.] ; ред. К. Уилсон, Дж. Уокер ; пер. с англ. Т. П. Мосоловой и Е. Ю. Бозелек-Решетняк ; под ред. А. В. Левашова, В. И. Тишкова Принципы и методы биохимии и молекулярной биологии Москва 2013 http://dlib.rsl.ru	01 Дек 2014	Сводная коллекция РГБ	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[150]	<input type="text" value="0%"/>	0,11%	Оптимизация производства липопептидов, синтезируемых <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> B15, методом анализа на поверхности отклика. http://elibrary.ru	02 Дек 2019	eLIBRARY.RU	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[151]	<input type="text" value="0%"/>	0,1%	Rapid identification of biosurfactant-producing bacterial strains using a cell surface hydrophobicity technique. http://elibrary.ru	раньше 2011	eLIBRARY.RU	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[152]	<input type="text" value="0%"/>	0,1%	Т. 3 http://emll.ru	08 Июл 2017	Медицина	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[153]	<input type="text" value="0%"/>	0,08%	Классификация растительности степей бассейна Дона: монография http://biblioclub.ru	21 Янв 2020	Сводная коллекция ЭБС	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.

УДК 616.972

Гумерова А. Р.

Студентка 3 курса кафедры
 фундаментальной и прикладной микробиологии
 ФГБОУ ВО БГМУ МИНЗДРАВА РОССИИ
 г. Уфа, РФ

Научный руководитель: Тупиев И. Д.

доцент, к.б.н. кафедры
 фундаментальной и прикладной микробиологии
 ФГБОУ ВО БГМУ МИНЗДРАВА РОССИИ
 г. Уфа, РФ

**АНАЛИЗ ЧАСТОТЫ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ СИФИЛИСОМ ПО
 ОТДЕЛЬНЫМ СУБЪЕКТАМ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В ПЕРИОД
 С 2015 ПО 2018 ГОДЫ**

Аннотация

Венерические болезни являются одной из актуальных социальных проблем современности, вследствие большой распространенности, тяжести последствий для больных, влияния на репродуктивное здоровье населения. Сифилис среди данных инфекций, согласно результатам многих исследований, занимает достаточно большой удельный вес (20,9%), являясь наиболее показательной инфекцией социального неблагополучия общества. В структуре заболеваемости сифилисом немалую долю составляют скрытые формы, чаще фиксируемые в возрастной группе 20–40 лет и в большей мере у женщин, что определяет эпидемиологическую значимость данного контингента больных, способствующую «накоплению» инфекции среди населения. Беременные и новорожденные в условиях эпидемической ситуации сифилиса являются самой уязвимой группой [4].

Для проведения исследовательской работы были выбраны следующие регионы: Липецкая область, Московская область, Республика Дагестан, Республика Тыва. Данная группа представленных субъектов РФ представляет особый интерес для изучения, так как включает в себя регионы, отличающиеся друг от друга социально-экономическим положением, религиозностью населения, доступностью специализированной медицинской помощи. Выбор регионов подкрепляется данными, предоставляемыми РИА Новости в разделе РИА Рейтинг [6], в котором приводится сравнение социально-экономического положения регионов за 2018 год с указанием места отдельного региона по отношению к другим субъектам РФ. Согласно информации, предоставляемой данным сайтом, Московская область по итогам 2018 года занимает 4 место среди регионов России, Липецкая область – 22 место, Республика Дагестан – 58 место, Республика Тыва – 85, самое последнее место среди регионов РФ.

Вне зависимости от конфессиональной принадлежности большинство религий ограничивает беспорядочные половые связи. Не исключается, что именно по этой причине в некоторых выбранных регионах, в частности в Липецкой области и Республике Дагестан, наблюдается относительно небольшое число заболевших сифилисом. Например, если оценивать религиозность россиян с позиций регионоведения, то, северокавказский регион демонстрирует более высокий относительно других регионов уровень религиозности населения. В Дагестане верующих (по самоидентификации) в 90-е гг. XX века было в пределах 81-95%. По мнению Дзусова 70-80% населения относятся к практикующим мусульманам [2]. Стоит отметить, что именно в Республике Дагестан зафиксировано наименьшее число заболевших сифилисом среди других выбранных субъектов РФ.

Исходя из актуальности проблемы целью исследования было сравнить общую заболеваемость сифилисом в Липецкой и Московской областях, в Республиках Дагестан и Тыва в течение 2015–2018 гг.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

1. Определить частоту заболевания сифилисом в 2015-2018 гг. в Липецкой области, Московской области, Республике Дагестан и Республике Тыва.

2. Сравнить частоту встречаемости данного заболевания в Липецкой области, Московской области, Республике Дагестан и Республике Тыва за 2015–2018 гг.

3. Проанализировать динамику встречаемости заболевания в указанных регионах.

Материалы и методы. В процессе исследования была проанализирована литература, содержащая информацию о заболеваемости сифилисом; использованы данные Федеральной службы государственной статистики по населению отдельных регионов [7], рассматриваемых в этой статье; изучены и обобщены сведения, предоставляемые Министерством Здравоохранения Российской Федерации «Социально-значимые заболевания населения России» [5] с 2015 по 2018 годы.

Ключевые слова

Сифилис, венерическое инфекционное заболевание, заболеваемость, инфицированные, частота, динамика

Результаты и обсуждение

Сифилис – хроническое системное венерическое инфекционное заболевание с поражением кожи, слизистых оболочек, внутренних органов, костей, нервной системы с последовательной сменой стадий болезни, вызываемое бактериями вида *Treponema pallidum* (бледная трепонема) подвида *pallidum*, относящимся к роду трепонема (*Treponema*) порядка Спирохеты (*Spirochaetales*) [3].

В 2015 году общее число заболевших сифилисом среди населения в рассматриваемых регионах составило 3848 человек. Наибольшее количество инфицированных приходилось на Московскую область – 3236. Это связано в том числе с тем, что в данном субъекте проживало самое большое число людей по

сравнению с другими регионами. Наименьшее число заболевших зарегистрировано в Республике Дагестан – 112 человек. Возможно, как упоминалось ранее, это связано с религиозностью населения. В Липецкой области и в Республике Тыва число инфицированных составило 173 и 327 соответственно. Несмотря на свою информативность рассчитанные абсолютные значения не совсем точно отображали распространение заболевания по регионам, в связи с этим была рассчитана встречаемость заболеваемости сифилисом относительно 100 тыс. населения.

Расчет частоты встречаемости сифилиса на 100 тыс. населения в изучаемых регионах РФ с 2015 по 2018 годы (см. табл. 1) был произведен благодаря данным, представленным на сайтах Росстат и Минздрав.

Таблица 1

Количество заболеваний сифилисом в Липецкой, Московской областях, Республиках Дагестан и Тыва на 100 тыс. населения с 2015 по 2018 годы

Субъекты РФ	2015	2016	2017	2018
Липецкая область	15.0	12.4	10.7	11.7
Московская область	44.5	32.6	32.4	30.9
Республика Дагестан	3.7	3.5	4.5	3.8
Республика Тыва	103.9	85.5	63.4	43.3

Анализ данных, представленных в таблице 1, позволил сравнить частоту встречаемости заболеваний сифилисом в Липецкой и Московской областях, Республиках Дагестан и Тыва за 2015–2018 гг. Так, в 2015 году в Республике Тыва число инфицированных составило 103.9 человек на 100 тыс. населения. Данный показатель являлся наибольшим среди выбранных регионов в указанном году. Наименьшее число зараженных было зафиксировано в Республике Дагестан (3.7 человек на 100 тыс. населения). В Липецкой области было зарегистрировано 15 случаев инфицирования сифилисом на 100 тыс. населения, а в Московской области этот показатель составил 44.5 случая на 100 тыс. населения. В течение 3-х последующих лет в рассматриваемых регионах

наблюдалось изменение числа заболевших с сохранением рейтинга по количеству случаев заражения сифилисом. Изменение доли встречаемости сифилиса в интересующих регионах в период с 2015 по 2018 годы представлено на рисунке 1.

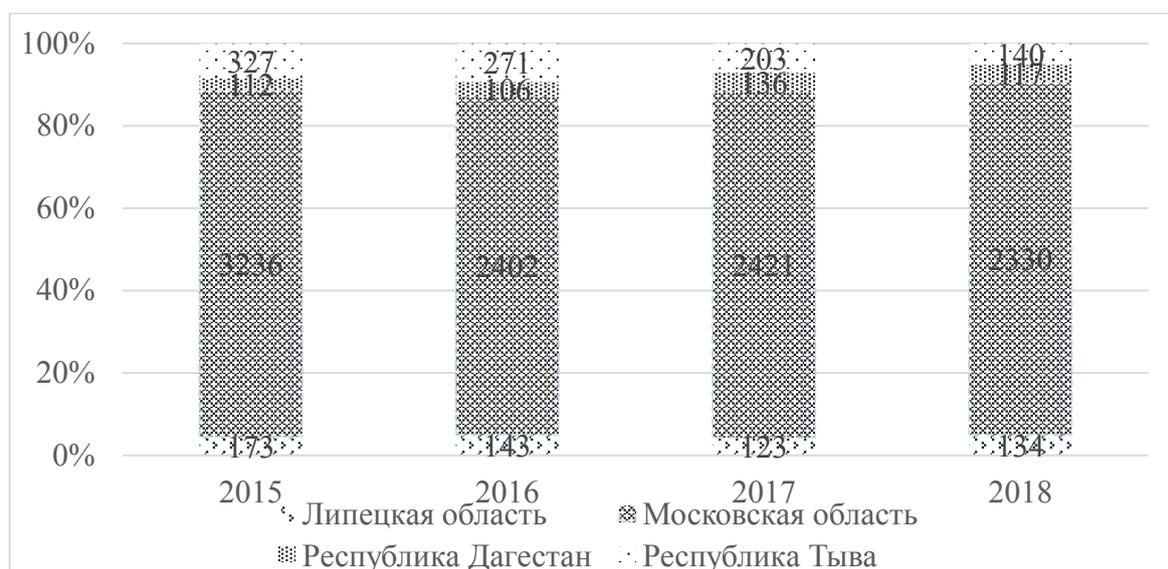


Рисунок 1 – Распределение количества заболеваний сифилисом в Липецкой и Московской областях, Республиках Дагестан и Коми с 2015 по 2018 годы.

*Примечание. Внутри столбцов указаны абсолютные значения случаев заражения сифилисом.

Было замечено, что среди субъектов Российской Федерации как в начале, так и в конце анализируемого периода по заболеваемости сифилисом лидировала Республика Тыва (103,9 и 43,3 на 100 тыс. населения соответственно). Наименьшее число заразившихся сифилисом среди выбранных регионов было зафиксировано в Республике Дагестан (3,7–3,8 случая на 100 тыс. населения). Результаты анализа данных официальной статистики показали, что с 2015 по 2018 года в 3 из 4 исследуемых регионах в целом наблюдалась тенденция к снижению заболеваемости сифилисом (рис 2). В особенности положительная динамика, связанная с уменьшением случаев заражения, была отмечена в Республике Тыва. Так, в данном регионе с 2015 по 2016 года произошло снижение заболеваемости сифилисом на 17,7 %. В последующие 2 года также

отмечалось уменьшение случаев заражения: с 2016 по 2017 года на 25,8%, а в период с 2017 по 2018 гг. данный показатель упал на 31,7 %. Изучение данных по Московской и Липецкой областям и последующие расчёты, основанные на собранной информации, показали, что в рассматриваемых субъектах в период с 2015 по 2018 гг. тоже наблюдалось снижение частоты заболеваемости: на 30,6 % и 22% соответственно. Исключением являлась Республика Дагестан, в которой было зафиксировано незначительное колебание: в период с 2015 по 2016 годы отмечалось снижение заболеваемости сифилисом на 5,4 %, с 2016 по 2017 гг. – увеличение случаев заражения на 28,6 %, а с 2017 по 2018 года вновь было замечено уменьшение заболеваемости на 15,6 %. Стоит отметить, что сравнение числа случаев заражения за 2015 и 2018 года (начало и конец интересовавшего периода) показало, что в целом в Республике Дагестан произошёл незначительный рост заболеваемости сифилисом – на 2,7%. Для более наглядного представления информации был предложен рисунок, отображавший динамику заболеваемости сифилисом по интересовавшим регионам Российской Федерации в период с 2015 по 2018 гг. (рис 2).

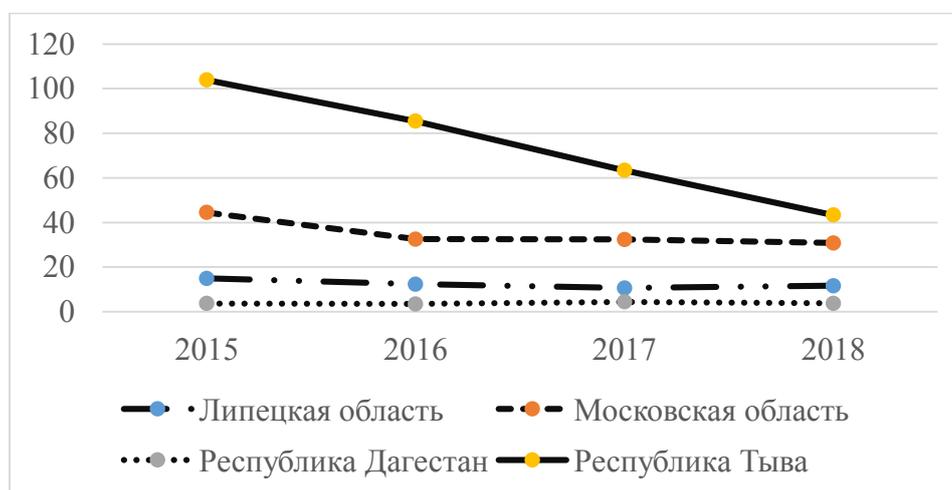


Рисунок 2 – Динамика заболеваемости сифилисом в Липецкой и Московской областях, Республиках Дагестан и Коми в период с 2015 по 2018 годы

Снижению заболеваемости сифилисом в 3 выбранных регионах (Липецкой области, Московской области и Республики Тыва), по всей видимости,

способствовал ряд факторов [1]:

1) организация системы первичной профилактики, в том числе повышение уровня информированности учащейся молодежи по проблеме ИППП, что привело к снижению риска заражения возбудителями социально значимых болезней, а также определенную роль сыграло проведение целевых медицинских осмотров;

2) мониторинг заболеваемости ИППП среди групп риска (работники коммерческого секса, потребители инъекционных наркотиков и др.), что способствовало раннему выявлению случаев заболевания сифилисом, а также своевременному проведению профилактических и противоэпидемических мероприятий среди контактировавших с источниками инфекции.

3) разработка системы взаимодействий всех ведомств и заинтересованных специалистов, работающих в области профилактики ИППП, что отражено в том числе в приказе Минздрава России от 30.07.2001 «О мерах по предупреждению распространения инфекций, передаваемых половым путем»;

4) использование врачами смежных специальностей и общей практики алгоритмов раннего выявления, регистрации случаев ИППП и их профилактики.

Заключение

Анализ статистических данных показал, что в Липецкой и Московской областях, в Республике Тыва в период с 2015 по 2018 гг. была отмечена тенденция к снижению заболеваемости сифилисом. Республика Дагестан по неизвестным причинам стала исключением из этого списка. Однако, стоит отметить, что увеличение случаев заражения инфекцией в этом регионе оказалось незначительным. В связи с полученными результатами исследования можно предположить, что в последующие года будет наблюдаться положительная динамика, связанная со снижением заболеваемости сифилитической инфекцией. Возможно, этому поспособствуют улучшенная организация системы первичной профилактики, более тщательный мониторинг заболеваемости сифилисом среди групп риска и активное сотрудничество врачей

смежных специальностей.

Список использованной литературы:

1. Иванова М.А., Соколовская Т.А., Матушевская Ю.И., Волгин В.Н. Заболеваемость различными формами сифилиса в Российской Федерации // Инфекционные болезни: Новости. Мнения. Обучение. 2017. №6 (23). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/zabolevaemost-razlichnymi-formami-sifilisa-v-rossiyskoj-federatsii>.
2. Имагожева Д. И. Религиозность как индикатор общественной жизни // Вестник Адыгейского государственного университета. Серия 1: Регионоведение: философия, история, социология, юриспруденция, политология, культурология. 2016. №4 (189). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/religioznost-kak-indikator-obshchestvennoy-zhizni>.
3. Кашаева А.И. Заболеваемость сифилисом в Республике Башкортостан в 2012-2015 гг // БМИК. 2016. №5. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/zabolevaemost-sifilisom-v-respublike-bashkortostan-v-2012-2015-gg>.
4. Кокина О. А., Гурьева В. А., Немцева Т. В. Заболеваемость сифилисом. Влияние инфекции на течение и исходы беременности // Ж. акуш. и жен. болезн.. 2009. №2. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/zabolevaemost-sifilisom-vliyanie-infektsii-na-techenie-i-ishody-beremennosti>
5. Министерство здравоохранения Российской Федерации/ Статистические материалы/ <https://minzdrav.gov.ru/ministry/61/22/stranitsa-979/statisticheskie-i-informatsionnye-materialy/statisticheskie-materialy>
6. РИА Рейтинг / Инфографика / Рейтинг социально- экономического положения регионов – 2020 <https://riarating.ru/infografika/20200602/630170513.html>
7. Федеральная служба государственной статистики/ Численность населения Российской Федерации по муниципальным образованиям/ <https://rosstat.gov.ru/compendium/document/13282>

© Гумерова А.Р., 2020

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Медико-профилактический факультет с отделением биологии
Кафедра фундаментальной и прикладной микробиологии

**СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ГЕНОВ
СУРФАКТИНА, ФЕНГИЦИНА И ИТУРИНА**



Выполнила: студентка группы Б-401А Гумерова А.Р.

Научный руководитель: д.б.н., профессор Маркушева Т.В.

Актуальность

- Биосурфактанты - поверхностно-активные вещества биологического происхождения, образующиеся в результате жизнедеятельности организмов, в частности микроорганизмов. Представляют собой достойные аналоги синтетических ПАВ.
- Достоинства: низкая токсичность; биоразлагаемость; специфичность и устойчивость к экстремальным условиям. Для биосурфактантов свойственны антибактериальная, антифунгицидная и противовирусная активности.
- Недостатки: низкая продуктивность штаммов-продуцентов; дорогое сырье → капиталоемкость и неконкурентоспособность по сравнению с синтетическими ПАВ → невозможность производства в крупных масштабах
- Решение: изучение генов сурфактина, фенгицина и итурина → расширение набора новых штаммов, синтезирующих биосурфактанты

Цель исследования

Сравнительное изучение бактериальных генов сурфактина, фенгицина и итурина

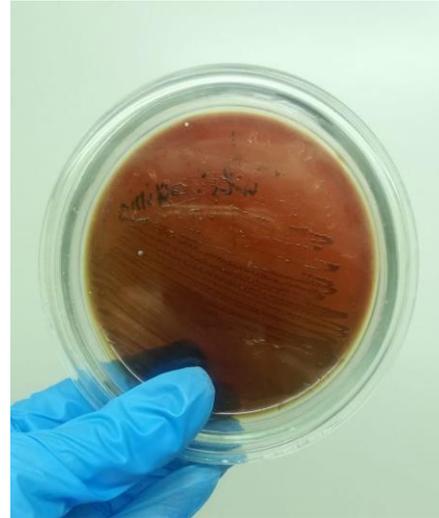
Задачи исследования

1. Изучить культуральные, морфологические и физиолого-биохимические особенности штаммов рода *Bacillus* (*B. subtilis*, *B. cereus*, *B. altitudinis*) ; *S. plymuthica* и консорциума штаммов;
2. Произвести детектирование генов сурфактантов методом ПЦР (сурфактина, фенгицина, итурина и лихенизина) у рода *Bacillus* (*B. subtilis*, *B. cereus*, *B. altitudinis*) ; *S. plymuthica* и консорциума штаммов;
3. Осуществить сравнительный анализ полученных результатов.

Объекты исследования



Фотография 1. Штаммы, составляющие коллекцию Уфимского института биологии УФИЦ РАН: *B. cereus* DG-1, *B. cereus* DG-5, *B. cereus* DG-6, *B. cereus* DG-7, *B. subtilis* TA-3, *B. subtilis* TA-8, *Serratia plymuthica* TV-4 и консорциум штаммов VM-2



Фотография 2. *Bacillus altitudinis* API-2019, который был выделен из помета медоносной пчелы *Apis mellifera mellifera* L.

• 9 объектов:

1. *Bacillus cereus* DG-1, *B. cereus* DG-5, *B. cereus* DG-6, *B. cereus* DG-7;
2. *B. subtilis* TA-3, *B. subtilis* TA-8;
3. *Serratia plymuthica* TV-4 и консорциум штаммов VM-2;
4. *Bacillus altitudinis* API-2019, вновь выделенный из помета медоносной пчелы *Apis mellifera mellifera* L.

Коллекция
Уфимского
Института
биологии
УФИЦ РАН

Методы работы

В исследовании использовались методы:

1. идентификации музейных штаммов с помощью системы VITEK[®] MS, основанной на методе масс-спектрометрии;
2. изучения культуральных, морфологических и физиолого – биохимических характеристик штаммов;
3. выделения ДНК из бактериальных клеток изучаемых штаммов;
4. полимеразной цепной реакции в реальном времени.

	Ген	Последовательность праймеров	Размер праймера	Темп. отжига (°C)
Iturin A	<i>ituC</i>	F-5'GGCTGCTGCAGATGCTTTAT 3' R-5'TCGCAGATAATCGCAGTGAG 3'	20 20	58
	<i>ituD</i>	F-5'TTGAAYGTCAGYGCSCCTTT 3' R-5'TGCGMAAATAATGGSGTCGT 3'	20 20	57
Lichenisin	<i>lchAA</i>	F-5'ACTGAAGCGATTCGCAAGTT 3' R-5'TCGCTTCATATTGTGCGTTC 3'	20 20	56
Surfactin	<i>sfp</i>	F-5'ATGAAGATTTACGGAATTTA 3' R-5'TTATAAAAGCTCTTCGTACG 3'	20 20	50
	<i>srfAA</i>	F-5'TCGGGACAGGAAGACATCAT 3' R-5'CCACTCAAACGGATAATCCTGA 3'	20 22	60
Fengycin	<i>fenB</i>	F-5'CCTGGAGAAAGAATATACCGTACCY 3' R-5'GCTGGTTCAGTTKGATCACAT 3'	25 21	57
	<i>fenD</i>	F-5'GGCCCGTTCTCTAAATCCAT 3' R-5'GTCATGCTGACGAGAGCAAA 3'	20 20	60

Таблица 1. Праймеры, использованные для детектирования генов сурфактантов

Результаты и обсуждение



Рисунок 1. График накопления амплификата гена *sfp*, выявленного у штамма *B. cereus* DG-5 в режиме ПЦР в реальном времени

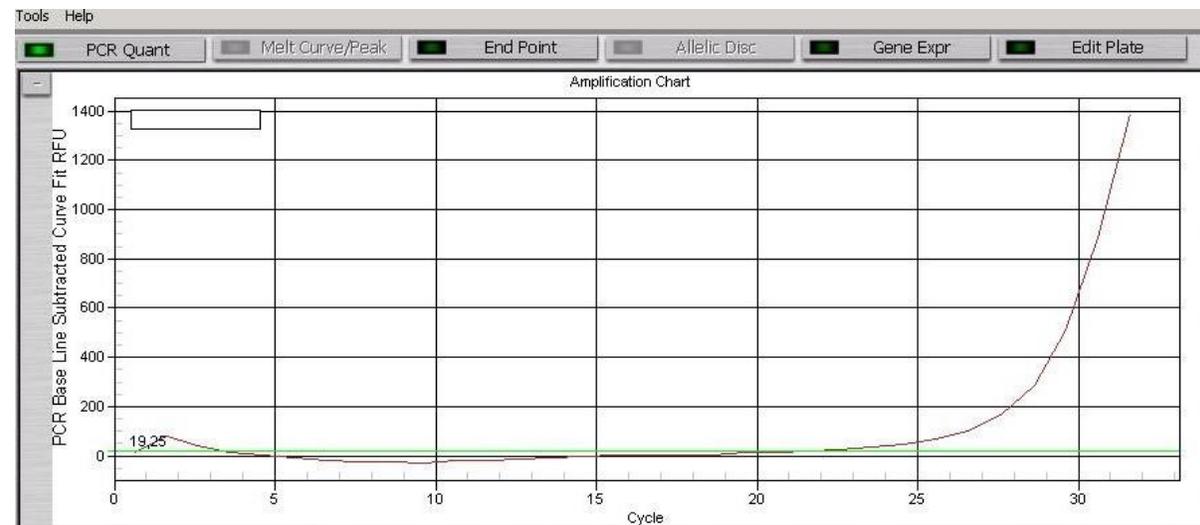


Рисунок 2. График накопления амплификата гена *sfp*, выявленного у штамма *B. cereus* DG-6 в режиме ПЦР в реальном времени

Накопление продуктов амплификации при использовании праймера гена *sfp* является доказательством присутствия в геномах *Bacillus cereus* DG-5 и DG-6 гена *sfp*, регулирующего синтез сурфактина. Полученные результаты несут в себе новизну, так как в литературе ранее не встречались.

Результаты и обсуждение

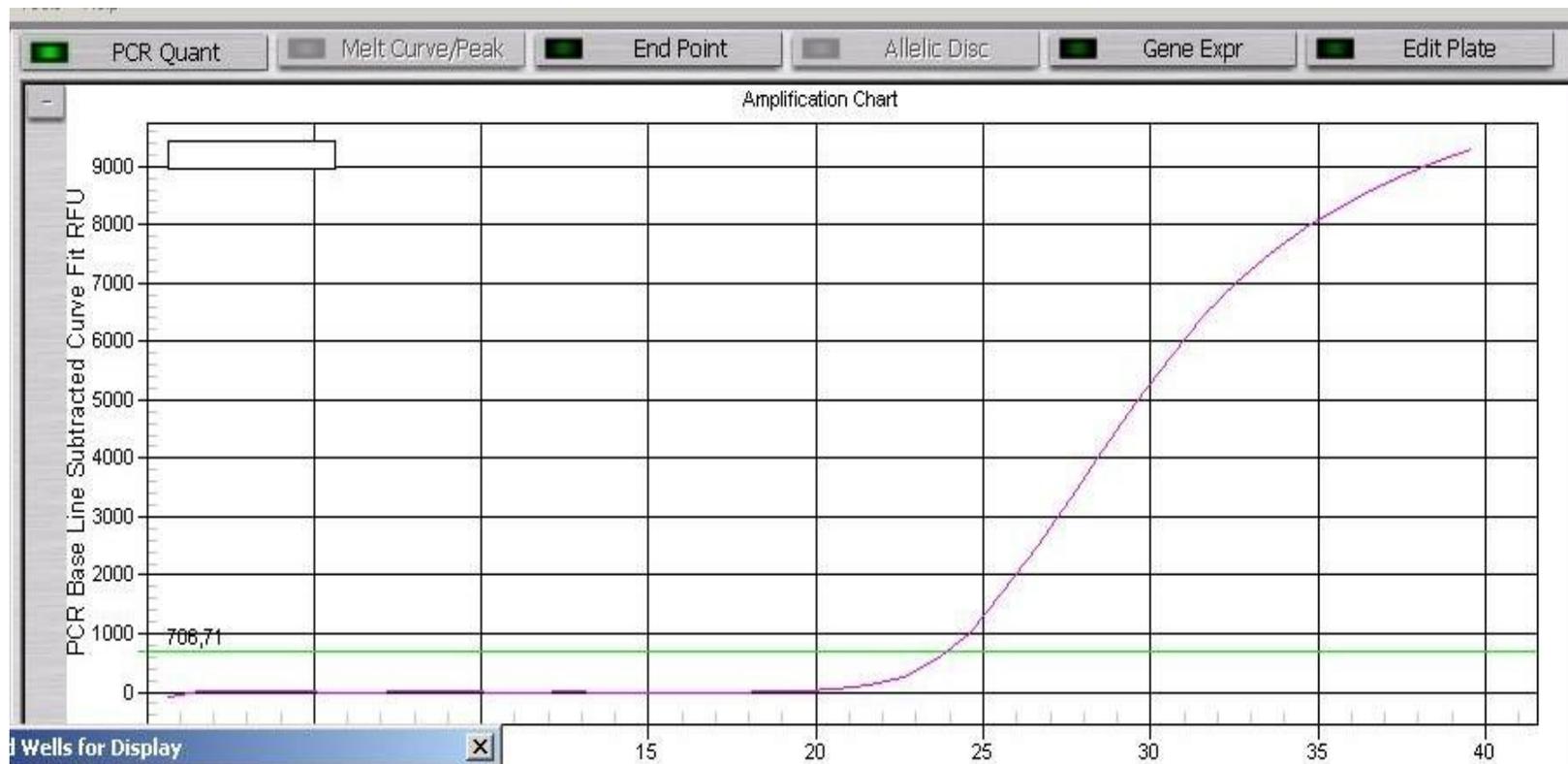


Рисунок 3. График накопления амплификата гена *srfAA*, выявленного у штамма *B. subtilis* TA-8 в режиме ПЦР в реальном времени

Накопление продуктов амплификации при использовании праймера гена *srfAA* является доказательством присутствия в геноме *Bacillus subtilis* TA-8 гена *srfAA*, регулирующего синтез сурфактина.

Результаты и обсуждение

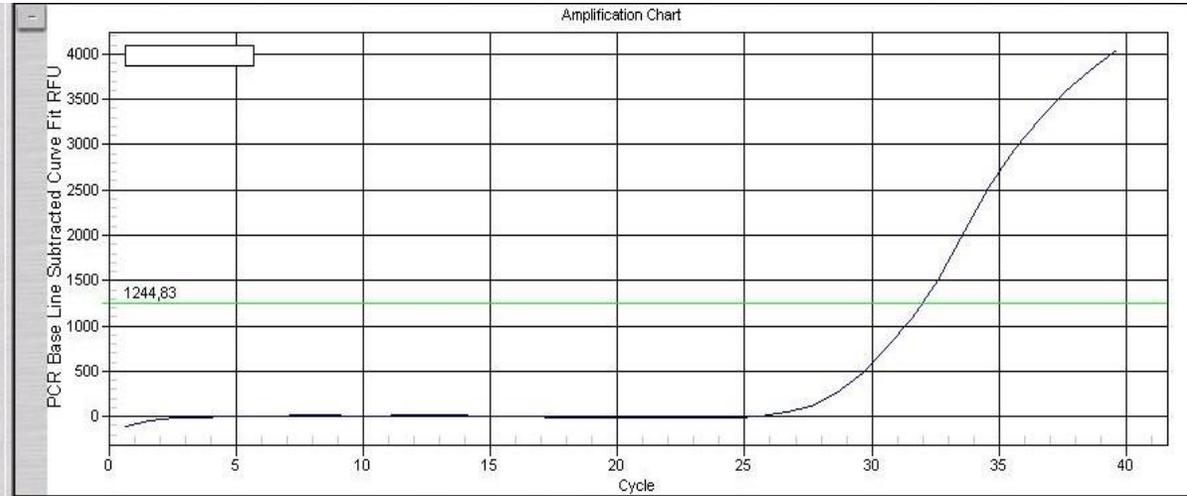


Рисунок 4. График накопления амплификата гена *ituD*, выявленного у штамма *B. altitudinis* API-2019 в режиме ПЦР в реальном времени

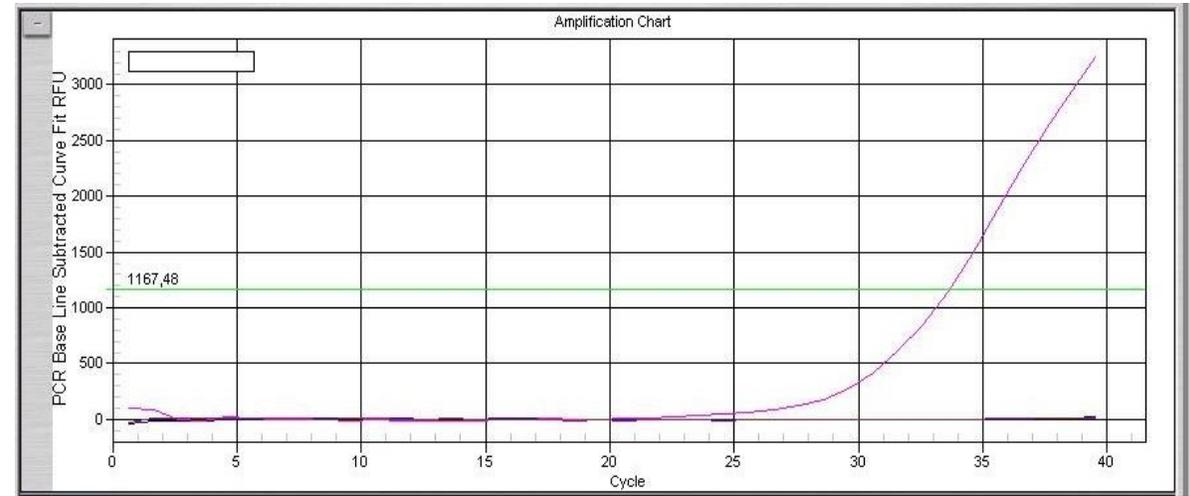


Рисунок 5. График накопления амплификата гена *fenD*, выявленного у штамма *B. altitudinis* API-2019 в режиме ПЦР в реальном времени

Накопление продуктов амплификации при использовании праймера гена *ituD* и праймера гена *fenD* является доказательством присутствия в геноме *Bacillus altitudinis* API-2019 генов *ituD* и *fenD*, регулирующих синтез итурина А и фенгицина соответственно.

Результаты и обсуждение

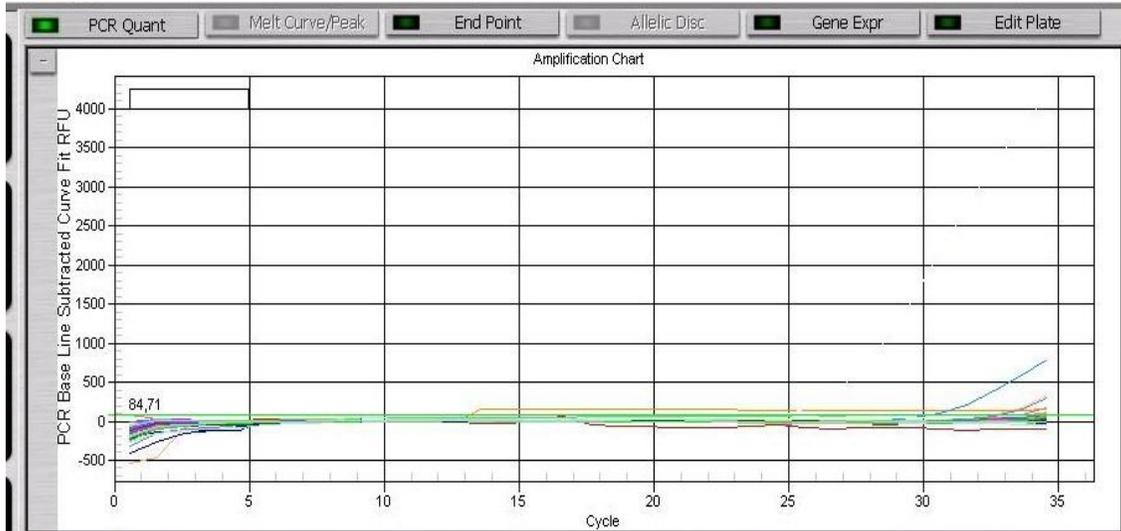


Рисунок 6. График накопления амплификата генов *srfAA* и *fenD*, выявленного у штаммов *B. cereus* DG-1, *B. cereus* DG-5, *B. cereus* DG-6, *B. cereus* DG-7, *B. subtilis* TA-3, *B. altitudinis* API-2019, *S. plymuthica* TV-4, консорциума штаммов VM-2 и *B. cereus* DG-1, *B. cereus* DG-5, *B. cereus* DG-6, *B. cereus* DG-7, *B. subtilis* TA-3, *B. subtilis* TA-8, *S. plymuthica* TV-4, консорциума штаммов VM-2 в режиме ПЦР в реальном времени

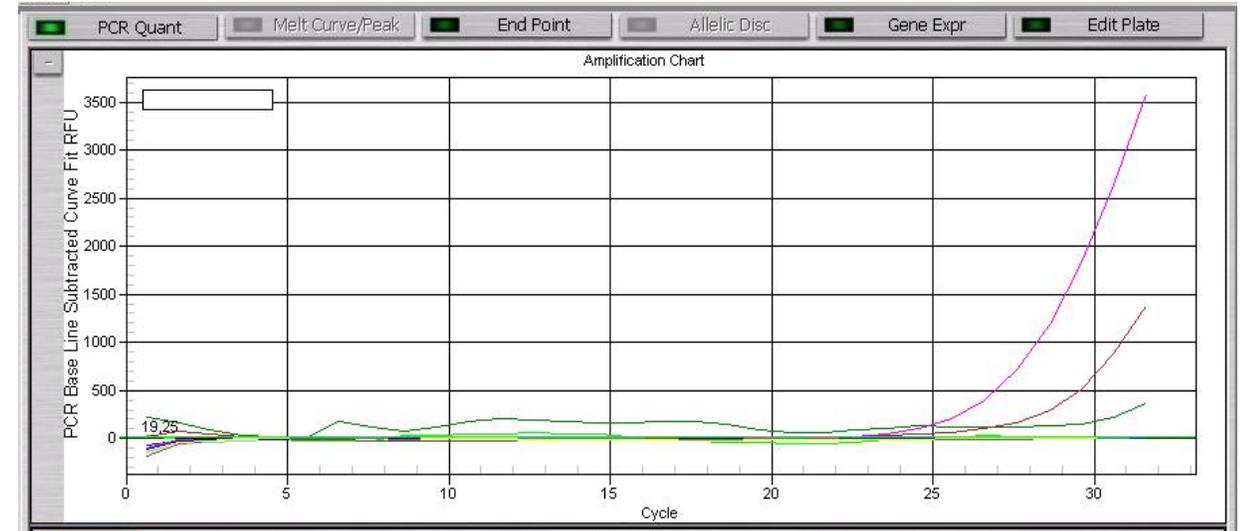


Рисунок 7. График накопления амплификата гена *sfp*, выявленного у штаммов *B. cereus* DG-1, *B. cereus* DG-7, *B. subtilis* TA-3, *B. subtilis* TA-8, *B. altitudinis* API-2019, *S. plymuthica* TV-4, консорциума штаммов VM-2

Накопление продуктов амплификации при использовании праймера гена *srfAA*, праймера гена *fenD* и праймера гена *sfp* является доказательством отсутствия в геномах *B. cereus* DG-1,5,6,7, *B. subtilis* TA-3, *S. plymuthica* TV-4, консорциума штаммов VM-2 генов *srfAA*, *fenD* и *sfp*; у *B. subtilis* TA-8 – генов *fenD* и *sfp*; у *B. altitudinis* API-2019 нет генов *srfAA* и *sfp*.

Результаты и обсуждение

Накопление продуктов амплификации при использовании праймера гена *ituC*, праймера гена *ituD*, праймера гена *lchAA* и праймера гена *fenB* является доказательством отсутствия в геномах *B. cereus* DG-1,5,6,7, *B. subtilis* TA-3,8, *S. plymuthica* TV-4, консорциума штаммов VM-2 генов *ituC*, *ituD*, *lchAA* и *fenB*; у *B. altitudinis* API-2019 нет генов *ituC*, *lchAA* и *fenB*.

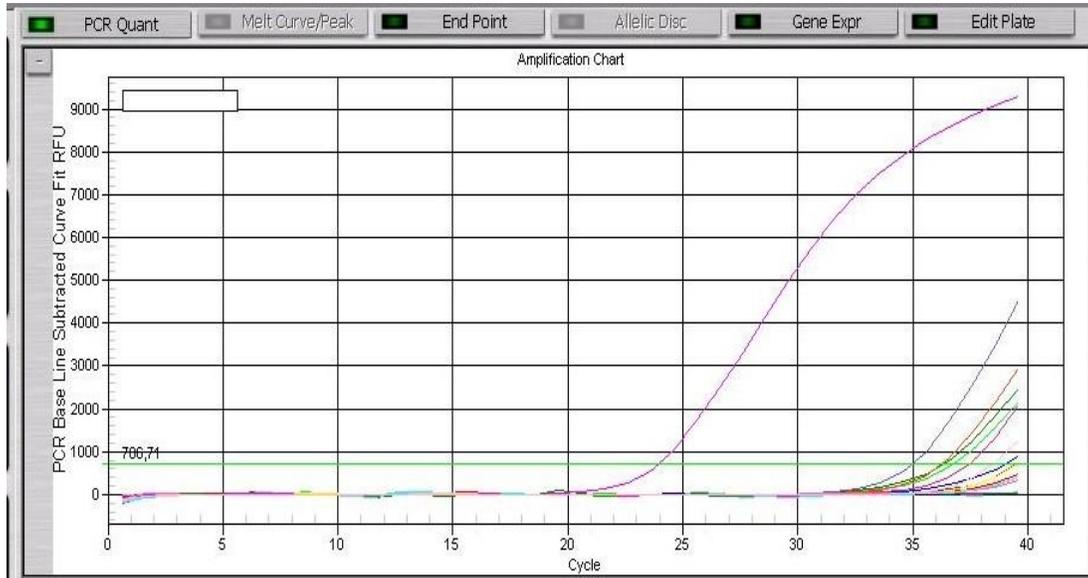


Рисунок 8. График накопления амплификата генов *ituC*, *ituD*, *lchAA* и *fenB*, выявленного у штаммов *B. cereus* DG-1, *B. cereus* DG-5, *B. cereus* DG-6, *B. cereus* DG-7, *B. subtilis* TA-3, *B. subtilis* TA-8, *B. altitudinis* API-2019, *S. plymuthica* TV-4, консорциума штаммов VM-2; *B. cereus* DG-1, *B. cereus* DG-5, *B. cereus* DG-6, *B. cereus* DG-7, *B. subtilis* TA-3, *B. subtilis* TA-8, *S. plymuthica* TV-4, консорциума штаммов VM-2; *B. cereus* DG-1, *B. cereus* DG-5, *B. cereus* DG-6, *B. cereus* DG-7, *B. subtilis* TA-3, *B. subtilis* TA-8, *B. altitudinis* API-2019, *S. plymuthica* TV-4, консорциума штаммов VM-2; *B. cereus* DG-1, *B. cereus* DG-5, *B. cereus* DG-6, *B. cereus* DG-7, *B. subtilis* TA-3, *B. subtilis* TA-8, *B. altitudinis* API-2019, *S. plymuthica* TV-4, консорциума штаммов VM-2 в режиме ПЦР в реальном времени

Результаты и обсуждение

	<i>Bacillus cereus</i> DG-1	<i>Bacillus cereus</i> DG-5	<i>Bacillus cereus</i> DG-6	<i>Bacillus cereus</i> DG-7	<i>Bacillus subtilis</i> TA-3	<i>Bacillus subtilis</i> TA-8	<i>Bacillus altitudinis</i> API-2019
<i>ituC</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>ituD</i>	-	-	-	-	-	-	+
<i>lchAA</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>sfp</i>	-	+	+	-	-	-	-
<i>srfAA</i>	-	-	-	-	-	+	-
<i>fenB</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>fenD</i>	-	-	-	-	-	-	+

Таблица 2. Гены, детектируемые у штаммов рода *Bacillus*. Желтым цветом выделены положительные результаты

	<i>Serratia plymuthica</i> TV-4	Консорциум штаммов VM-2
<i>ituC</i>	-	-
<i>ituD</i>	-	-
<i>lchAA</i>	-	-
<i>sfp</i>	-	-
<i>srfAA</i>	-	-
<i>fenB</i>	-	-
<i>fenD</i>	-	-

Таблица 3. Гены, поиск которых осуществлялся у штаммов *S. plymuthica* TV-4 и консорциума штаммов VM-2

- В таблицах 2 и 3 представлены данные, полученные в результате исследований.
- Было выявлено, что некоторые штаммы, принадлежащие к роду *Bacillus*, имеют в составе своего генома гены, определяющие синтез сурфактантов.
- Ген *sfp* присутствовал у штаммов *B. cereus* DG-5 и DG-6, ген *srfAA* – у *B. subtilis* TA-8, а гены *ituD* и *fenD* обнаружены у штамма *B. altitudinis* API-2019.

Выводы

1. Методом ПЦР в реальном времени было выявлено, что в геномах *Bacillus cereus* DG-5 и *Bacillus cereus* DG-6 присутствует ген *sfp*, кодирующий синтез сурфактина. Полученные результаты обладают новизной, так как в более ранних исследованиях отсутствует информация о способности *Bacillus cereus* продуцировать сурфактин.
2. Методом ПЦР в реальном времени в геноме *Bacillus subtilis* TA-8 обнаружен ген *srfAA*, кодирующий синтез сурфактина.
3. Методом ПЦР в реальном времени в геноме *Bacillus altitudinis* API-2019 обнаружены гены *ituD* и *fenD*, кодирующие синтез итурина и фенгицина соответственно.

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ !

СЛАЙД 1

Гумерова Адель Рафаэлевна

Уважаемый председатель, уважаемые экзаменаторы и члены экзаменаторы государственной экзаменационной комиссии, разрешите представить доклад к дипломной работе на тему: «Сравнительное исследование бактериальных генов сурфактина, фенгицина и итурина».

СЛАЙД 2

Гены сурфактина, фенгицина и итурина кодируют в геномах бактерий синтез биосурфактантов.

Биосурфактанты - поверхностно-активные вещества биологического происхождения, образующиеся в результате жизнедеятельности организмов, в частности микроорганизмов. Представляют собой достойные аналоги синтетических ПАВ.

Биосурфактанты находят применение в разных областях человеческой деятельности: в медицине, косметологии, сельском хозяйстве, пищевой промышленности, нефтяной и добывающей промышленности, химическом производстве чистящих и моющих средств.

Достоинствами биосурфактантов являются низкая токсичность; биоразлагаемость; специфичность и устойчивость к экстремальным условиям. Для данных веществ свойственны антибактериальная, антифунгицидная и противовирусная активности.

К недостаткам биосурфактантов относятся низкая продуктивность штаммов-продуцентов, а также дорогое сырье, что делает биосурфактанты капиталоемкими и неконкурентоспособными по сравнению с синтетическими ПАВ. Ввиду этого становится невозможным производство этих соединений в крупных масштабах.

Решение данной проблемы заключается в изучении генов сурфактина, фенгицина и итурина, что позволит расширить набор новых штаммов, синтезирующих биосурфактанты.

СЛАЙД 3

Целью исследования являлось сравнительное изучение бактериальных генов сурфактина, фенгицина и итурина.

Для достижения цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Изучить культуральные, морфологические и физиолого-биохимические особенности штаммов рода *Bacillus* (*B. subtilis*, *B. cereus*, *B. altitudinis*); *S. plymuthica* и консорциума штаммов;
2. Произвести детектирование генов сурфактантов методом ПЦР (сурфактина, фенгицина, итурина и лихенизина) у рода *Bacillus* (*B. subtilis*, *B. cereus*, *B. altitudinis*); *S. plymuthica* и консорциума штаммов;
3. Осуществить сравнительный анализ полученных результатов

СЛАЙД 4

Объекты исследования представлены 8 штаммами и одним консорциумом штаммов:

1. *Bacillus cereus* DG-1, 5, 6, 7; *Bacillus subtilis* TA-3, 8; *Serratia plymuthica* TV-4 и консорциумом штаммов VM-2, относящихся к коллекции Уфимского института биологии УФИЦ РАН. Представлены на фотографии 1.
2. И *Bacillus altitudinis* API-2019, вновь выделенный из помета медоносной пчелы *Apis mellifera mellifera* L. Штамм представлен на фотографии 2.

СЛАЙД 5

В исследовании использовались методы:

1. идентификации музейных штаммов с помощью системы VITEK[®] MS, основанной на методе масс-спектрометрии;
2. изучения культуральных, морфологических и физиолого – биохимических характеристик штаммов;
3. выделения ДНК из бактериальных клеток изучаемых штаммов;
4. полимеразной цепной реакции в реальном времени.

Таблица 1 содержит информацию о праймерах, которые были использованы для детектирования генов сурфактантов.

СЛАЙД 6

Рисунки 1 и 2 содержат графики накопления продуктов амплификации при использовании праймера гена *sfp*. Они доказывают присутствие в геномах *Bacillus cereus* DG-5 и DG-6 гена *sfp*, регулирующего синтез сурфактина. Полученные результаты несут в себе новизну, так как в литературе ранее не встречались.

СЛАЙД 7

Рисунок 3 включает в себя график накопления продуктов амплификации при использовании праймера гена *srfAA*. График является доказательством присутствия в геноме *Bacillus subtilis* TA-8 гена *srfAA*, регулирующего синтез сурфактина.

СЛАЙД 8

Рисунки 4 и 5 отражают особенности накопления продуктов амплификации при использовании праймера гена *ituD* и праймера гена *fenD*. Графики доказывают присутствие в геноме *Bacillus altitudinis* API-2019 генов *ituD* и *fenD*, регулирующих синтез итурина А и фенгицина соответственно.

СЛАЙД 9

Рисунки 6 и 7 содержат графики накопления продуктов амплификации при использовании праймера гена *srfAA*, праймера гена *fenD* и праймера гена *sfp*. Представленные рисунки доказывают отсутствие в геномах *B. cereus* DG-1,5,6,7, *B. subtilis* TA-3, *S. plymuthica* TV-4, консорциума штаммов VM-2 генов *srfAA*, *fenD* и *sfp*; у *B. subtilis* TA-8 – генов *fenD* и *sfp*; у *B. altitudinis* API-2019 нет генов *srfAA* и *sfp*.

СЛАЙД 10

Рисунок 8 включает в себя график накопления продуктов амплификации при использовании праймера гена *ituC*, праймера гена *ituD*, праймера гена *lchAA* и праймера гена *fenB*. График является доказательством отсутствия в геномах *B. cereus* DG-1,5,6,7, *B. subtilis* TA-3,8, *S. plymuthica* TV-4, консорциума штаммов VM-2 генов *ituC*, *ituD*, *lchAA* и *fenB*; у *B. altitudinis* API-2019 нет генов *ituC*, *lchAA* и *fenB*.

СЛАЙД 11

- В таблицах 2 и 3 представлены данные, полученные в результате исследований. Таблица 2 содержит информацию о генах, детектируемых у штаммов рода *Bacillus*. Желтым цветом выделены положительные результаты. А таблица 3 указывает на гены, поиск которых осуществлялся у штаммов *S. plymuthica* TV-4 и консорциума штаммов VM-2.
- Было выявлено, что некоторые штаммы, принадлежащие к роду *Bacillus*, имеют в составе своего генома гены, определяющие синтез сурфактантов.
- Ген *sfp* присутствовал у штаммов *B. cereus* DG-5 и DG-6, ген *srfAA* – у *B. subtilis* TA-8, а гены *ituD* и *fenD* обнаружены у штамма *B. altitudinis* API-2019.

СЛАЙД 12

ВЫВОДЫ

1. Методом ПЦР в реальном времени было выявлено, что в геномах *Bacillus cereus* DG-5 и *Bacillus cereus* DG-6 присутствует ген *sfp*, кодирующий синтез сурфактина. Полученные результаты обладают новизной, так как в более ранних исследованиях отсутствует информация о способности *Bacillus cereus* продуцировать сурфактин.
2. Методом ПЦР в реальном времени в геноме *Bacillus subtilis* TA-8 обнаружен ген *srfAA*, кодирующий синтез сурфактина.
3. Методом ПЦР в реальном времени в геноме *Bacillus altitudinis* API-2019 обнаружены гены *ituD* и *fenD*, кодирующие синтез итурина и фенгицина соответственно.

СЛАЙД 13

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!